



Facultad de Veterinaria
Universidad Zaragoza



Trabajo Fin de Máster en Calidad, Seguridad y Tecnología de los Alimentos

Vida útil y evolución del perfil de ácidos grasos en pastas alimenticias
suplementadas con concentrados de pescado

Shelf life and evolution of the fatty acids profile in pastas supplemented with fish
concentrates

Autor

Andrea Ainsa Lana

Directores

José Antonio Beltrán Gracia
Juan Benito Calanche

Facultad de Veterinaria

2019

Índice

Resumen	1
Abstract	1
1. Introducción	2
1.1. Pescado.....	2
1.2. Pastas alimenticias.....	3
1.3. Pasta suplementada con pescado.....	4
1.4. Ácidos grasos poliinsaturados.....	5
1.5. Vida útil.....	6
1.6. Antioxidantes en los alimentos	7
2. Justificación.....	8
3. Objetivos del estudio	9
3.1. Objetivo general	9
3.2. Objetivos específicos.....	9
4. Material y métodos.....	10
4.1. Materia prima	10
4.2. Fabricación de pastas	11
4.3. Caracterización de las pastas.....	13
4.3.1. Análisis físico-químicos.....	13
4.3.1.1. Humedad relativa	13
4.3.1.2. Actividad de agua (a_w).....	13
4.3.1.3. Nitrógeno Básico Volátil Total (NBVT).....	13
4.3.1.4. Análisis del ácido tiobarbitúrico (TBARS)	14
4.3.1.5. Perfil de ácidos grasos.....	14
4.3.1.6. Índice de acidez	15
4.3.1.7. Contenido de sal (NaCl).....	15
4.3.2. Análisis proximal	15
4.3.2.1. Proteína.....	15
4.3.2.2. Grasa	15
4.3.2.3. Fibra	16
4.3.2.4. Cenizas	16
4.3.2.5. Valor energético	16
4.3.3. Análisis sensorial.....	16
4.3.3.1. Análisis triangular	16
4.3.3.2. Análisis descriptivo cuantitativo (QDA).....	16
4.4. Análisis estadístico.....	17

5. Resultados	19
5.1. Elaboración de las pastas.....	19
5.1.1. Análisis de la materia prima.....	19
5.1.2. Fabricación de pastas	20
5.2. Caracterización nutricional	20
5.2.1. Análisis proximal y valor energético.....	20
5.3. Perfil de ácidos grasos.....	22
5.3.1. Estabilidad en el tiempo de los ácidos grasos	22
5.4. Evaluación de parámetros físico-químicos.....	28
5.4.1. Análisis de ácido tiobarbitúrico (TBARS)	28
5.4.2. Índice de acidez (IA)	30
5.4.3. Actividad de agua (a_w).....	31
5.4.4. Nitrógeno Básico Volátil Total (NBVT).....	32
5.4.5. Parámetros de Calidad y evolución durante el almacenamiento	33
5.5. Evaluación de las propiedades organolépticas	38
5.5.1. Análisis triangular	38
5.5.2. Análisis descriptivo cuantitativo (QDA)	38
6. Conclusiones	43
7. Referencias bibliográficas	44
Anexo I. Tablas completas del perfil de ácidos grasos.	49
Anexo II. Análisis triangular.	53
Anexo III. Análisis descriptivo cuantitativo.....	54

Resumen

En este estudio se desarrollaron pastas alimenticias de tipo *fusilli* enriquecidas con concentrados de lubina (*Dicentrarchus labrax*) con la finalidad de aumentar el contenido de proteínas y ácidos grasos y de esta manera, fomentar el consumo de pescado a través de productos innovadores. Se elaboraron dos formulaciones diferentes las cuales fueron sometidas a un almacenamiento en distintas condiciones y a la incorporación de un antioxidante. Las pastas fabricadas se caracterizaron mediante análisis físico-químicos y sensoriales. Además, se evaluó su vida útil y sus características sensoriales con un panel entrenado. El análisis proximal de los productos mostró la mejora del valor nutricional con el aporte de proteínas, grasas y fibra mientras que el perfil de ácidos grasos confirmó un enriquecimiento en ácidos grasos ω -3 y ω -6. El estudio de vida útil demostró que las pastas alimenticias son estables durante 90 días, aunque presentan cambios significativos en algunos de los parámetros físico-químicos y sensoriales.

Abstract

In this study, *fusilli* type pasta enriched with sea bass concentrates (*Dicentrarchus labrax*) was developed in order to increase its protein and fatty acid content and, in this way, encouraging the consumption of fish through innovative products. Two different formulations were developed which were subjected to storage under different conditions and the incorporation of an antioxidant. The manufactured pastas were characterized by physico-chemical and sensory analyses. Furthermore, its shelf life and sensory characteristics carried out by a trained panel were evaluated. The proximal analysis of the products showed the improvement of the nutritional value with the contribution of proteins, fats and fiber while the profile of fatty acids confirmed an enrichment in fatty acids ω -3 and ω -6. The shelf life study demonstrated that the pastas are stable for 90 days, although there are significant changes in some of the physico-chemical and sensory parameters.

1. Introducción

1.1. Pescado

El pescado es un alimento muy apreciado por los españoles debido a su excelente calidad y a la variedad de especies que se encuentran en el mercado (Martínez *et al.*, 2005). El músculo de pescado varía en su composición química en relación con la especie de la que se trata; en este sentido, existen especies con cantidades variables de lípidos que van desde muy pocos a abundantes. Además, los individuos de la misma especie presentan variaciones en cuanto a la edad, sexo, ambiente donde habitan y estación del año.

El pescado es uno de los alimentos con mayor cantidad de sustancias nutritivas: agua, proteína, grasa, carbohidratos, minerales (hierro, zinc, yodo, potasio, sodio) y vitaminas (A, D, B6 y B12). Dentro de sus lípidos destacan los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) en los que predominan los ω -3 sobre los ω -6, siendo importante el ácido docosahexaenoico (C22:6 ω -3) (DHA) y el eicosapentanoico (C20:5 ω -3) (EPA). Diversos estudios han demostrado que esta serie de ácidos grasos poliinsaturados poseen propiedades beneficiosas para la salud (Desai *et al.*, 2018). El valor energético de los pescados es determinado en gran medida por su contenido de grasa. Como se ha mencionado anteriormente, dicho contenido depende de diversos factores. La composición de esta grasa varía según la especie; en tal sentido, destaca la proporción de ácidos grasos poliinsaturados en unas cantidades de 25-45% en pescados, 40-50% en crustáceos y 30-45% en bivalvos (Martínez *et al.*, 2005).

El consumo doméstico del pescado en el año 2017, teniendo en cuenta pescados frescos, congelados, mariscos y conservas de pescado y moluscos, cayó un 3,3% respecto al año 2016. Los hogares destinaron el 13,3% del gasto en alimentación a la compra de pescado. El pescado fresco representa el 44,4% del volumen de pescado consumido. El consumo medio en España por persona y año en 2017 fue de 23,7 kg, un 6,9% menos que lo ingerido en 2016 (MAPA, 2018). Los nuevos estilos de vida, la falta de tiempo de los consumidores y las diversas formas de comer pescado son algunas de las razones que explicarían este descenso. A pesar de estos datos, España es un referente en el consumo de pescado (Europa Azul, 2018).

1.2. Pastas alimenticias

Las pastas alimenticias, según el Real Decreto 2181/1975 (con última modificación de marzo de 2013), son los productos obtenidos por desecación de una masa no fermentada elaborada con sémola, semolina o harina procedente de trigo duro, trigo semiduro o trigo blando o sus mezclas y agua potable. Hay diferentes tipos de pastas alimenticias entre las que se encuentran las pastas alimenticias simples y las pastas alimenticias compuestas en las que se ha incorporado alguna sustancia alimenticia como puede ser gluten, soja, huevo, leche o vegetales entre otras. Además, según este mismo decreto también puede haber pastas alimenticias rellenas simples o compuestas y pastas alimenticias frescas las cuales no han sufrido un proceso de desecación. Sin embargo, todas son el resultado de procesos de extrusión o laminación que dan origen a un amplio número de productos derivados que difieren en características tales como color, composición, almacenamiento y uso del producto (Costa *et al.*, 2010).

La pasta está constituida principalmente por carbohidratos y proteínas que le proporcionan un elevado valor nutricional (Sicignano *et al.*, 2015). Además, este producto tiene una gran versatilidad, un bajo coste y una fácil preparación (Desai *et al.*, 2018).

Respecto al consumo de pastas alimenticias en España, la ingesta media (kg por persona/año) se encuentra en 4,09 (MAPA, 2018). Aunque este alimento se produce en España, se hace necesario importar el 60% del producto desde otros países para satisfacer la demanda, sobre todo doméstica (>80%) (DARetail, 2011). La importación de pastas en el año 2016 fue de 2.782 t siendo los principales orígenes Bélgica, Alemania, Países Bajos, Francia e Italia (MEIC, 2017).

La globalización y la creciente competencia en la industria de este alimento hacen que sea importante la elaboración de nuevos tipos de pasta que van más allá del concepto tradicional debido a que los clientes son cada vez más exigentes en cuanto a términos de calidad y además muestran gran interés en los productos alimenticios innovadores (Dexter, 2001).

1.3. Pasta suplementada con pescado

En el ámbito de los alimentos no sólo se debe tener en cuenta los beneficios económicos que reportan para la empresa, sino que además se deben considerar sus características nutricionales, así como la calidad de vida que proporcionen a los consumidores. Las tendencias actuales en el desarrollo de alimentos buscan el ahorro de tiempo con comidas de preparación rápida, listas para consumir, productos personalizados que aportan formas y colores, nuevas mezclas de sabores y nuevas presentaciones para productos clásicos, el desarrollo de productos exóticos, sofisticados, energéticos, dietéticos, saludables y naturales (Innofood, 2017). En este contexto, se debe pensar en las preocupaciones del consumidor en cuanto a los riesgos de enfermedades y a la alimentación saludable (Lutz, 2013).

El consumidor percibe el pescado como una excelente fuente de proteínas de alta calidad que contienen lípidos con altos niveles de grasas insaturadas del tipo ω -3 y ω -6. Por otro lado, los cereales se colocan en una posición importante en el ámbito de la nutrición, ya que aportan fibra, minerales, hidrocarburos y lípidos ricos en ácidos grasos monoinsaturados como el oleico (C18:1 n-9). Por lo tanto, la pasta es una excelente opción para la incorporación de fuentes alternativas de nutrientes debido a que es un producto popular, fácil de obtener, elaborar y almacenar (Kadam y Prabhasankar, 2010).

La pasta alimenticia enriquecida con ácidos grasos ω -3 que procedan de una suplementación o sustitución con pescado, puede ser una gran oportunidad para conseguir la ingesta diaria recomendada de ácidos grasos poliinsaturados y de fibra (Filipović *et al.*, 2015). Existen en la bibliografía, trabajos previos enfocados en el enriquecimiento de pastas con concentrados de pescado (Devi, 2013; Filipović *et al.*, 2015; Calanche *et al.*, 2019) que han demostrado que dicha incorporación mejora el valor nutricional del producto dando alto contenido en proteína y otros ingredientes bioactivos, pero ocasionando la modificación de algunos parámetros tales como los tiempos de cocción, la textura y el color (Desai *et al.*, 2018).

1.4. Ácidos grasos poliinsaturados

Los ácidos grasos son nutrientes esenciales para la salud humana que tienen funciones importantes en el organismo. Según las estructuras químicas se pueden encontrar diferentes ácidos grasos, los saturados (SFA), los monoinsaturados (MUFA) y los poliinsaturados (PUFA). De estos tipos de ácidos grasos, los que tienen una mayor bioactividad son los PUFA, dentro de los cuales destacan los ω -3 y los ω -6 que son componentes estructurales y funcionales de las membranas celulares (Schuchardt *et al.*, 2010). El grupo de los ω -3, presentan un doble enlace en el tercer carbono del extremo metilo. Los más importantes son el ácido α -linoleico -ALA- (C18:3 n-3), el ácido eicosapentaenoico -EPA- (C20:5 n-3), el ácido docosapentaenoico -DPA- (C22:5 n-3) y el ácido docosahexaenoico -DHA- (C22:6 n-3) (EFSA, 2010).

En cuanto a sus beneficios para la salud de los consumidores, los PUFA y especialmente los ω -3 desempeñan importantes funciones en el organismo como la reducción del riesgo de padecer enfermedades coronarias. En concreto, el ácido eicosapentaenoico (EPA; C20:5 ω -3) y ácido docosahexaenoico (DHA; C22:6 ω -3), mostrados en la Figura 1, juegan un papel fundamental en la prevención de enfermedades cardiovasculares, diabetes tipo II, enfermedades oculares, artritis y fibrosis quística (Babuskin *et al.*, 2014). Por tanto, es recomendable aumentar su ingesta en la dieta. La Sociedad Internacional para el Estudio de los Ácidos Grasos y Lípidos (ISSFAL) recomienda un consumo dietético de 0,65 g/día de EPA y DHA.

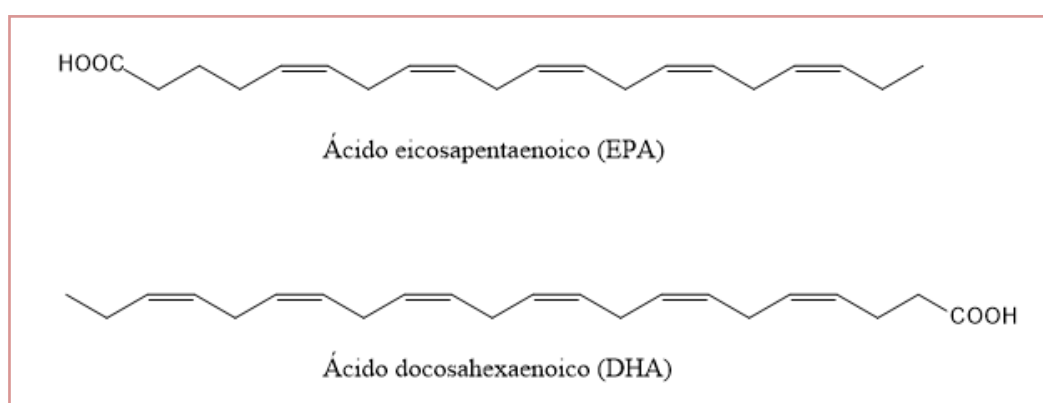


Figura 1. Estructura de EPA y DHA.

Estudios en pastas han demostrado que la adición de estos ácidos grasos afecta positivamente en la composición y naturaleza de los lípidos que se encuentran en el producto final mejorando así la proporción (ratio) de ácidos grasos ω -6/ ω -3 (Filipović *et al.*, 2015).

1.5. Vida útil

La vida útil, generalmente, se define como el periodo de tiempo durante el cual un producto alimenticio permanece seguro, cumple con la declaración de la etiqueta de datos nutricionales y mantiene sus características sensoriales, físicas, químicas y microbiológicas deseadas cuando se almacena bajo las condiciones recomendadas (Giménez *et al.*, 2012). Por tanto, se habla de vida útil cuando se hace referencia a la duración que un alimento puede tener cumpliendo con sus características y exigencias de valor nutritivo, inocuidad y aceptabilidad. Este concepto se puede entender como el periodo anterior a la “fecha de caducidad” (Man, 2002).

Para analizar y estudiar la vida útil de los alimentos, es importante medir la velocidad de cambio de un atributo de calidad determinado. La calidad de un producto se puede definir utilizando varios factores, entre otros, sus características sensoriales, valor nutritivo e inocuidad para la salud (Silva y Sánchez-González, 2016). Por ello, se utilizan dos estrategias principales para almacenar y evaluar productos durante un experimento de vida útil: el diseño de almacenamiento básico y el diseño invertido (Bouillé y Beeren, 2016).

El diseño de almacenamiento básico es el enfoque más simple y común para realizar un experimento de vida útil. Consiste en realizar análisis fisicoquímicos y sensoriales a intervalos regulares de tiempo durante su almacenamiento (Giménez *et al.*, 2012). Otra opción para diseñar una vida útil es analizar un conjunto de muestras con diferentes tiempos de almacenamiento, todas juntas, en una sola evaluación, a éste se le denomina diseño de almacenamiento invertido y puede realizarse escalonando los tiempos del producto (Lawless y Heymann, 2010).

Al considerar la vida útil de un alimento como una función de la estabilidad de los lípidos que lo componen, existen dos principales reacciones que pueden comprometer su estabilidad en el tiempo. Estas reacciones son, en primer lugar, la hidrólisis de acilglicéridos o mejor conocida como lipólisis, y aquellas de oxidación con formación de radicales libres. Para determinar la vida útil, es esencial conocer la composición química de la grasa, las condiciones en las que se conserva el alimento y si se ha usado alguna sustancia antioxidante (Talbot, 2011). De acuerdo con los resultados de investigaciones realizadas (Celma, 2018; Desai *et al.*, 2018; Calanche *et al.*, 2019) en

pasta suplementada con pescado, los lípidos susceptibles por naturaleza a reacciones oxidativas pueden afectar a los atributos sensoriales tales como color, olor, sabor y textura, así como al valor nutricional del producto (Pearson *et al.*, 1977; Glodde *et al.*, 2018). Por tanto, la adición de un antioxidante que proteja las grasas presentes en la pasta que ha sido suplementada con pescado sería una estrategia muy conveniente.

1.6. Antioxidantes en los alimentos

Los antioxidantes juegan un papel fundamental como aditivos para la conservación de los alimentos ya que inhiben los procesos de oxidación. También pueden contribuir en una dieta adecuada como ingredientes funcionales (Shahidi y Zhong, 2015). La oxidación lipídica es una de las principales causas del deterioro de la calidad de los alimentos que puede afectar a su valor nutricional y propiedades sensoriales. Entre los métodos usados para controlar la oxidación lipídica, destaca el uso de sustancias antioxidantes como alternativa efectiva y económica. Estas sustancias tienen un efecto inhibitorio contra los procesos de oxidación a través de diferentes mecanismos tales como la donación y recepción de hidrógeno lábil y la quelación de iones metálicos (Shahidi y Zhong, 2010).

En los últimos años, ha aumentado el interés por los antioxidantes obtenidos de forma natural y por tanto las hierbas aromáticas representan una excelente oportunidad debido a su alto poder antioxidante, siendo el extracto de romero (*Rosmarinus officinalis* L.) uno de los más importantes. Se trata de un arbusto mediterráneo, rico en compuestos fenólicos donde destaca el ácido rosmarínico. El extracto de romero también puede ejercer un efecto antimicrobiano. (Sánchez-Camargo y Herrero, 2017; Andrade *et al.*, 2018) y es considerado como una sustancia “*clean label*” es decir, clara, limpia y comprensible desde el punto de vista del etiquetado de alimentos (Asioli *et al.*, 2017). Este antioxidante se encuentra regulado por el Reglamento (UE) N° 723/2013.

2. Justificación

Hoy en día los consumidores se preocupan por una alimentación equilibrada y saludable, debido en buena parte al esfuerzo de marketing realizado en el sector de los alimentos. Es por ello que durante los últimos años se ha generado un incremento en el consumo de pescado gracias a sus bondades nutricionales. A causa de esto, ha aumentado la necesidad de desarrollar e innovar con nuevos alimentos de origen acuático, elaborándose así productos, que poseen un valor añadido, dirigidos a satisfacer a los consumidores. Por tanto, en la presente investigación se desarrollaron pastas con la incorporación de lubina (*D. labrax*) con la intención de obtener un aporte de nutrientes que beneficie al consumidor, a través del incremento de proteínas con alto valor biológico, así como los lípidos que contienen ácidos grasos poliinsaturados, presentes de forma natural en la piel y músculo del pescado. De esta manera, se puede ofrecer un alimento funcional, rico en ácidos grasos del tipo ω -3, especialmente EPA y DHA, que además de tener una gran importancia en el ámbito nutricional, también posee la capacidad de proporcionar beneficios para la salud. Por otro lado, este desarrollo también implica un mejor aprovechamiento de los subproductos que se generan en la transformación industrial del pescado; por lo que se reduciría la generación de desechos haciendo el proceso mucho más rentable y sostenible.

3. Objetivos del estudio

3.1. Objetivo general

Evaluar la estabilidad de las grasas, especialmente de los ácidos grasos poliinsaturados, en pastas alimenticias suplementadas con concentrados de lubina durante su vida útil.

3.2. Objetivos específicos

- Analizar el perfil de ácidos grasos durante el almacenamiento de pastas suplementadas con concentrados de lubina mantenidas bajo distintas condiciones de conservación.
- Evaluar los parámetros de calidad físico-químicos más importantes de las pastas elaboradas durante el periodo de almacenamiento estudiado y para las distintas condiciones de conservación aplicadas.
- Valorar las características sensoriales, tanto en el punto inicial como final del periodo de almacenamiento estudiado, en las pastas elaboradas.

4. Material y métodos

4.1. Materia prima

Como principal materia prima se usó Lubina (*D. labrax*) fresca de acuicultura de producción nacional, a partir de la cual se obtuvieron 20 filetes cuya piel y músculo fueron igualmente aprovechados. La frescura de las lubinas fue analizada en la empresa proveedora ubicada en Zaragoza, y su comprobación se llevó a cabo mediante la determinación de la conductividad eléctrica empleando un equipo Torrymeter® (Distell, Escocia). El procedimiento seguido para la preparación de los concentrados a partir de los filetes se muestra en la Figura 2.

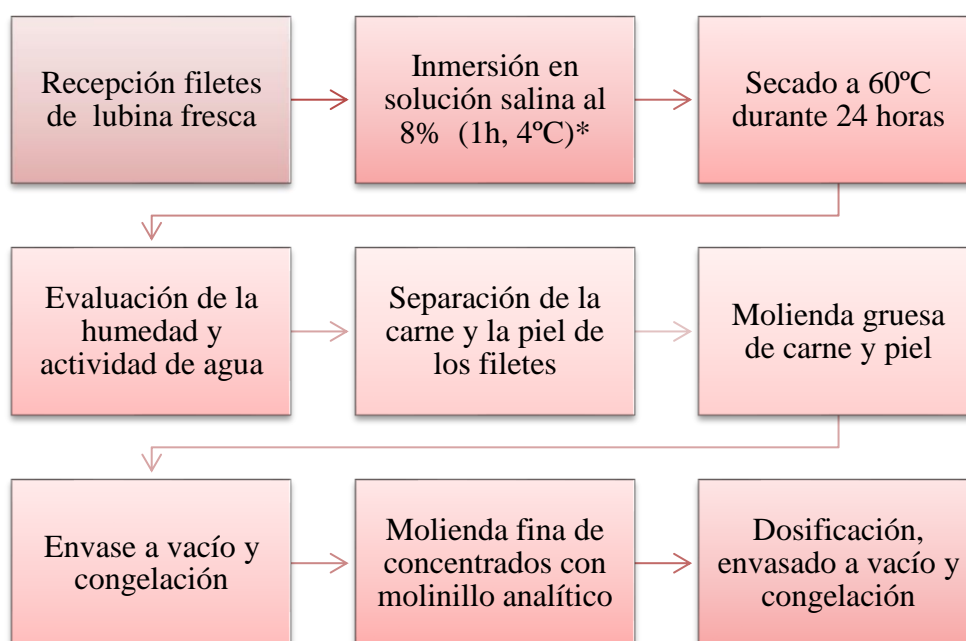


Figura 2. Elaboración del concentrado de lubina.

*1/2 de los pescados se sumergieron en salmuera con adición de *R. officinalis* y 1/2 se sumergió en salmuera sin adición del extracto como antioxidante

Se realizó una inmersión de los filetes en una solución salina al 8% durante 1h a 4°C con el fin de disminuir la carga microbiana inicial y favorecer la deshidratación posterior en el proceso de fabricación que garantizará la estabilidad durante el almacenamiento de los concentrados (Huss, 1999). El proceso de secado fue realizado en un horno (Verinox, Mod. Junior 1100) a una temperatura de 60°C durante 1d a velocidad lenta en ausencia de vapor evitando alcanzar temperaturas superiores que puedan afectar a los ácidos grasos presentes en el pescado. En primer lugar, se realizó una molienda gruesa en una picadora (Moulinex, Mod. A320R1), a continuación, se

llevó a cabo una molienda fina en un molinillo analítico (IKA, Mod. M20) para obtener un tamaño de partícula adecuado para la elaboración de la pasta. Los concentrados se envasaron al vacío en una envasadora de campana (Tecnotrip, Mod. EV-13) para finalmente ser congeladas (-20°C) hasta su uso, evitando su posible oxidación lipídica.

En el presente estudio, se consideró necesario evaluar la efectividad de la adición de un antioxidante natural, extracto de romero (*Rosmarinus officinalis*) E-392. Se añadió extracto comercial deshidratado de romero N2N® (Marbys, España) en una concentración de 150 ppm a la solución salina (8%) donde se sumergieron los filetes crudos, de acuerdo con lo establecido en la regulación (UE 723/2013) y teniendo en cuenta el contenido de grasa final de los concentrados de pescado ($\geq 45\%$). Seguidamente durante la molienda gruesa y con el fin de reforzar el efecto protector, se incorporó una segunda adición a razón de 15mg/kg a los concentrados secos. De esta manera, se obtuvieron dos tratamientos, el primero sin extracto que se denominó Control (C) y un segundo con adición de extracto de romero que se identificó como tratamiento antioxidante (A).

Respecto a los productos farináceos necesarios, estos fueron suministrados por un obrador local (Innova Obrador S.L.) quien proveyó la semolina de trigo *Durum* (*Triticum durum*) de origen italiano con certificación de calidad que garantizó la ausencia de patógenos, especialmente de *Staphylococcus aureus* (<100 ufc/g), *Salmonella sp.* y *Listeria monocytogenes* (ausencia en 25g). En el caso de la espelta (*Triticum spelta*) tanto para la harina (Nurture®) como para el salvado (El granero integral®), se recurrió a su adquisición en un establecimiento comercial. Además de estos productos, también se utilizaron como ingrediente para las pastas desarrolladas, caldo comercial de pescado deshidratado (DMR®), agua y extracto de setas (*Lentilula edoles*) comercial (Glucanfeed®) suministrados por la empresa Coala S.L. (España).

4.2. Fabricación de pastas

En primer lugar, se desarrollaron pastas con diferentes formulaciones de acuerdo al trabajo previo de Celma (2018). La fabricación de estas pastas se realizó en la Planta Piloto de la Facultad de Veterinaria en Zaragoza siguiendo el procedimiento mostrado en la Figura 3.

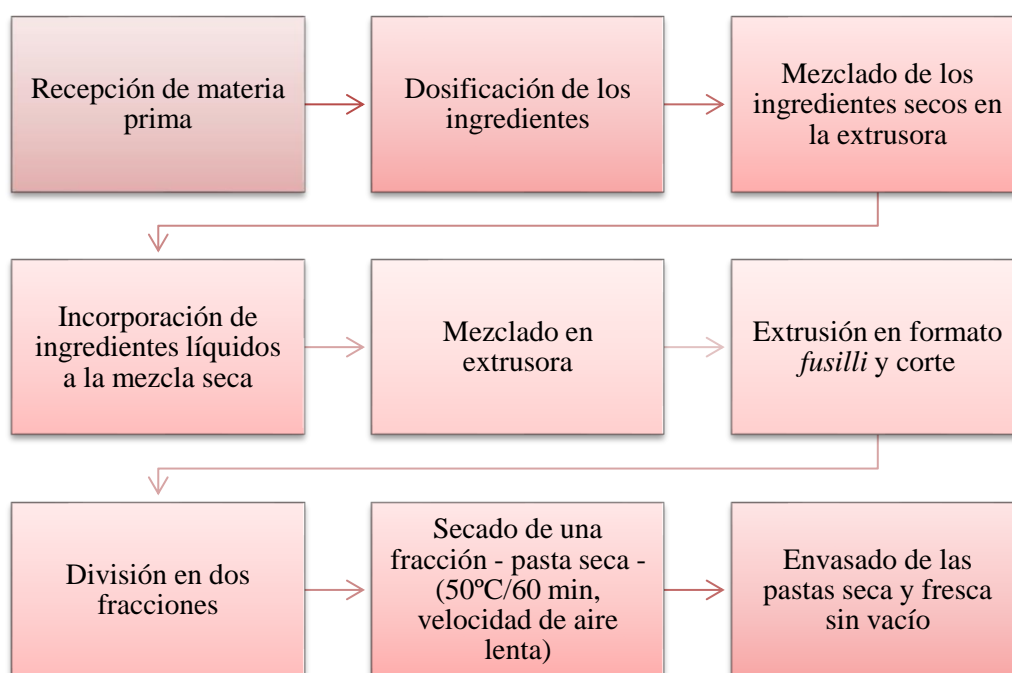


Figura 3. Elaboración de pastas tipo *fusilli* suplementadas con concentrado de pescado.

Las pastas fueron fabricadas mediante una extrusora experimental (Bottene, Mod. Lillodue 14057CE) en formato *fusilli*. Una de las formulaciones empleadas es la denominada “Marina” en la cual se utilizaron como ingredientes secos sémola de trigo *Durum* (*Triticum durum*), concentrado de músculo de pescado, extracto de hongos (*L. edodes*) como potenciador del sabor y como ingrediente líquido caldo de pescado reconstituido (12,5%), a partir de un fondo de pescado deshidratado en una solución salina al 2,5%. Así mismo, se utilizó otra formulación denominada “F10” que se fabricó con sémola integral de espelta (*Triticum espelta*) suplementada con salvado de espelta con el fin de obtener un mayor porcentaje de fibra y concentrado de músculo y piel de pescado en una relación 3:1 como ingredientes secos y como ingrediente líquido agua. Estas formulaciones se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Formulaciones (%) usadas para la fabricación de los dos tipos de pasta.

Marina	%	F10	%
Sémola <i>Durum</i>	64,5	Harina de espelta	55,0
Concentrado de carne	10,0	Salvado de espelta	10,0
Caldo de pescado	25,0	Concentrado de carne	7,5
Extracto de hongos	0,5	Concentrado de piel	2,5
		Agua	25

De esta manera, se obtuvieron dos tratamientos, las pastas sin adición de antioxidante que se denominaron control y las pastas con la adición de antioxidante. También se ensayaron dos métodos de conservación, el primero en congelación (-20°C) denominadas como pastas “frescas” y un segundo a temperatura ambiente, previo secado hasta un 10% humedad, que se identificó como pastas “secas”.

4.3. Caracterización de las pastas

Al finalizar la fabricación de las pastas, se realizó un estudio de vida útil y estabilidad de ácidos grasos durante cuatro puntos muestrales mediante pruebas físico-químicas y sensoriales. Además, las pastas fueron caracterizadas nutricionalmente mediante análisis proximales.

4.3.1. Análisis físico-químicos

4.3.1.1. Humedad relativa

La humedad relativa se midió por triplicado en la Planta Piloto de la Facultad de Veterinaria mediante un análisis termo-gravimétrico utilizando para ello una termobalanza (KERN & Sohn GmbH®, Mod. DBS 60-3).

4.3.1.2. Actividad de agua (a_w)

Este parámetro se evaluó por triplicado tanto en los concentrados de pescado como en las pastas desarrolladas mediante un equipo de medición automático de actividad de agua (Decagon Devices®, Mod. CX-1) utilizando para ello el protocolo descrito en el manual del usuario del equipo.

4.3.1.3. Nitrógeno Básico Volátil Total (NBVT)

Esta determinación se realizó siguiendo el protocolo descrito en el capítulo III del Reglamento (CE) N° 2074/2005 modificado por el Reglamento N° 1022/2008 titulado: “Determinación de la concentración de NBVT en pescados y productos de la pesca” con algunas modificaciones. Se tomaron 2 g de muestra y se mezclaron con 20 mL de ácido perclórico (HClO_4) al 10% (Panreac) manteniendo una proporción de 1:10. Se centrifugó durante 5 min a 3000 rpm (Hettich®, Universal 320R). La disolución obtenida tras una centrifugación se destiló mediante un aparato de destilación (VELP Scientifica, UDK 129), recogiendo el destilado en ácido bórico (H_3BO_3) al 3% (Panreac). Esta solución se valoró con un titulador automático (SI Analytics®, TitroLine

5000) con ácido clorhídrico (HCl) 0,1 N (VWR Chemicals). La cantidad de NBVT se expresó en mg/100 g teniendo en cuenta el volumen consumido de ácido clorhídrico en la valoración.

4.3.1.4. Análisis del ácido tiobarbitúrico (TBARS)

La oxidación lipídica se determinó realizando los análisis por triplicado mediante el método propuesto por Pfalzgraf *et al.* (1995). Se realizó una curva patrón utilizando 1,1,3,3-tetrametoxipropano (TMP) con el fin de estimar la cantidad de malonaldehído (MDA) en las pastas. Se realizó una extracción de 2 g de muestra con ácido tricloroacético (TCA) utilizando un homogeneizador Ultra-Turrax (IKA-WERKE®, T-25 basic). Tras centrifugar las muestras a 4°C durante 30 min y 4000 rpm (Hettich®, Universal 320R), se llevó a cabo la reacción con ácido tiobarbitúrico (TBA) calentando a 97°C durante 20 min en un baño termostático (J.P. Selecta®, Unitronic 2000). Tras enfriamiento, se realizó la lectura de absorbancia a 532 nm en un espectrofotómetro (UNICAM®, 5625 UV/VIS). Los resultados se calcularon utilizando la ecuación obtenida de las curvas patrón de TMP.

4.3.1.5. Perfil de ácidos grasos

El análisis del perfil de ácidos grasos se determinó de acuerdo con el método descrito por Bligh y Dyer (1959). La metodología consta de tres fases diferentes:

1. Extracción de la grasa: Se pesaron 8 g de muestra y se homogeneizó con la ayuda de un Ultraturrax (IKA-WERKE®, T-25 basic) utilizando diferentes reactivos que favorecen la extracción: cloroformo (Merck®), metanol, cloruro potásico (KCl) (Panreac Química SLU, Castellar del Vallés, España) y agua. Posteriormente, se centrifugaron las muestras a 4000 rpm durante 10 min (Centrífuga Z320 Hermle®), se extrajo la grasa de la parte posterior de los tubos y se añadió BHT (Sigma Aldrich®) como antioxidante. Tras esta extracción, se evaporó con atmósfera de nitrógeno (N₂). La grasa se almacenó en congelación para su posterior metilación.
2. Metilación: Se pesaron aproximadamente 0,03 g de la grasa. Esta grasa se mezcló con patrón interno disuelto en cloroformo (C23:0, Sigma Aldrich®), se añadió hexano (Merck®), y una solución saturada de hidróxido de potasio (KOH) (Panreac Química®) en metanol (Merck®) y se agitó vigorosamente. Se

dejó reposar y cuando se separó en dos fases, se extrajo la fase superior y se colocó en un vial.

3. Cromatografía de gases: Las muestras se analizaron en un cromatógrafo de gases (HP-6890 II Hewlett-Packard®) con una columna capilar SP-2380 (100 m x 0,25 mm x 0,20 µm). La columna se ajustó a 140°C, y a partir de entonces la temperatura aumentó 3°C/min hasta 165°C manteniendo estas condiciones durante 10 min. Después, se elevó 5°C/min hasta 220°C y se mantuvo durante 50 min. La composición de los ácidos grasos se cuantificó utilizando como patrón interno ácido tricosanoico (C23:0). Los datos obtenidos de composición se expresaron como área total (%) de los ácidos grasos identificados.

4.3.1.6. Índice de acidez

Para la determinación del índice de acidez se realizó de acuerdo con el método descrito en la norma COPANT NTE INEN 0038 (1969). Para la preparación de las muestras, se pesaron 2 g de muestra y se homogeneizaron con éter de petróleo que luego se evaporó. Posteriormente, se añadieron 10 mL de etanol neutralizado previamente y se valoraron las muestras por triplicado con una solución de NaOH 0,1 N.

4.3.1.7. Contenido de sal (NaCl)

El contenido en sal se determinó mediante el método de Mohr (Codex Stan 167-1989) para la determinación de cloruros utilizando para ello una valoración con nitrato de plata (AgNO_3) 0,05 N utilizando cromato potásico (K_2CrO_4) como indicador. Se llevó a cabo por triplicado.

4.3.2. Análisis proximal

Se realizó un análisis proximal en el punto inicial de las pastas con el fin de conocer su valor nutricional.

4.3.2.1. Proteína

El contenido total de proteína en las pastas se determinó mediante el método Kjeldahl. Se realizó por triplicado según el método AOAC (2000).

4.3.2.2. Grasa

El contenido total de grasa se determinó por triplicado tanto en los concentrados obtenidos como en las pastas finales. La determinación se llevó a cabo según el método

AOAC (1990). La hidrólisis ácida con éter de petróleo se realizó con un extractor Soxhlet semiautomático (Selecta, DET-GRAS N).

4.3.2.3. Fibra

La cantidad de fibra dietética en las pastas se determinó por triplicado mediante los métodos gravimétrico (Prosky *et al.*, 1988) y UNE-EN ISO 17472:2007.

4.3.2.4. Cenizas

Las cenizas totales se determinaron por triplicado en los dos tipos de pastas elaboradas. Se desarrolló de acuerdo al método gravimétrico AOAC 923.03 (2005), incinerando las muestras previamente deshidratadas y molidas en la mufla de la Planta Piloto de la Facultad de Veterinaria a $550 \pm 2^{\circ}\text{C}$.

4.3.2.5. Valor energético

La energía, expresada como kcal totales por cada 100 g, aportadas por las pastas elaboradas fueron calculadas con el factor de conversión de 4 kcal/g de hidrato de carbono o proteínas, y 9 kcal/g de grasa (Merrill y Watt, 1973).

4.3.3. Análisis sensorial

4.3.3.1. Análisis triangular

Para la caracterización sensorial se comenzó con un análisis triangular de acuerdo con la Norma UNE-EN ISO 4120:2008 con 15 consumidores para establecer la existencia de diferencias significativas en cuanto al sabor de las pastas desarrolladas, teniendo en cuenta la incorporación del extracto de romero como antioxidante. Para ello, se realizó un diseño completo y equilibrado mediante la utilización del programa XLSTAT considerando el modelo de Thurstone.

4.3.3.2. Análisis descriptivo cuantitativo (QDA)

Posteriormente se utilizó el panel entrenado de la Facultad de Veterinaria de 12 evaluadores y se llevó a cabo un análisis descriptivo cuantitativo –QDA- (Lawless y Heymann, 2010) de las pastas elaboradas mediante el uso de escalas no estructuradas de 10 cm de longitud para cada uno de los atributos sensoriales específicos para pasta establecidos por Calanche *et al.* (2019). Tuvieron lugar dos sesiones en la sala de catas de la Planta Piloto que cumple con lo establecido en la Norma ISO 8589:2007, para la caracterización del alimento tanto al principio como al final del experimento, siguiendo las recomendaciones de la Norma UNE-EN-ISO 8586:2014 con el fin de establecer

adecuadamente los cambios que se producían en el tiempo de acuerdo con el criterio de los jueces. En dichas sesiones, las pastas fueron preparadas mediante su cocción en agua hirviendo (100°C) durante los tiempos establecidos en estudios preliminares previos mostrados en la Tabla 2. Posteriormente, se sirvieron a los catadores sin ningún tipo de acompañamiento a una temperatura de 60°C.

Tabla 2. Tiempos de cocción para cada tipo de pasta elaborada.

Marina	Tiempo (s)	F10	Tiempo (s)
Fresca control (FC)	90	Fresca control (FC)	90
Fresca antioxidante (FA)	95	Fresca antioxidante (FA)	80
Seca control (SC)	290	Seca control (SC)	300-330
Seca antioxidante (SA)	295	Seca antioxidante (SA)	300-310

4.4. Análisis estadístico

Los resultados obtenidos tras los distintos análisis efectuados (físico-químicos y sensoriales) de este trabajo fueron analizados mediante estadística descriptiva e inferencial empleando el programa informático Microsoft Excel y su software estadístico XLSTAT (Addinsof®, Versión 16). Para comenzar, se realizó un análisis univariante que incluía el cálculo de máximos, mínimos, cuartiles, medianas, medias y varianzas, así como gráficos *box plot*, dispersigramas y de distribución normal. De esta manera, se pudo comprobar la normalidad de los datos y la detección de valores atípicos. Una vez ejecutado el paso anterior, se realizaron análisis de varianza (ANOVA) con interacción (3 factores) y usando la prueba de comparaciones múltiples de Fisher (LSD) con un intervalo de confianza del 95% como test *a posteriori* para establecer las diferencias entre medias. Con el propósito de establecer relaciones lineales entre las variables se desarrollaron matrices de correlación paramétrica (Pearson) en las cuales se obtuvieron tanto los coeficientes como su significancia. Posteriormente se realizaron análisis de componentes principales (ACP, como métodos de análisis multivariados, basados en la covarianza (n), a partir de las tablas de observaciones con aplicación de una rotación mediante el método *Orthomax* con el propósito de lograr una comprensión integral del estudio, revelando y estableciendo relaciones entre las variables y los tratamientos estudiados.

En cuanto al análisis sensorial, se realizó un análisis de panel para establecer el desempeño y confiabilidad de sus resultados. Comprobado su adecuado desempeño y capacidad discriminativa, se realizó un ANOVA con el fin de obtener aquellos parámetros con diferencias significativas en el tiempo. Por último, se llevó a cabo una caracterización del producto, a partir del método de los cosenos cuadrados para obtener los perfiles sensoriales de cada tipo de pasta, los cuales fueron presentados de forma simultánea en un *bi-plot* (ACP) para su estudio comparativo trazando elipses de confianza (95%).

5. Resultados

5.1. Elaboración de las pastas

5.1.1. Análisis de la materia prima

En la caracterización de la materia prima se obtuvieron resultados satisfactorios tanto en parámetros físico-químicos, determinados experimentalmente y mostrados en la Tabla 3, como en microbiológicos de acuerdo con los certificados de calidad expedidos por las empresas proveedoras que se ajustan a lo establecido en la legislación vigente.

Tabla 3. Parámetros físico-químicos de la materia prima.

Parámetros físico-químicos						
Muestra	NaCl (g/100g)	IA (g A. oleico/100g)	TBARS* (mg MDA/kg)	NBVT* (mg/100g)	Proteína (%)	Fibra (%)
Músculo fresco de lubina	1,31	1,33	0,83	6,72	-	-
Piel fresca de lubina	1,72	0,61	0,33	20,37	-	-
Extracto de setas	0,10	-	-	-	24,70	29,80
Caldo de pescado	1,25	-	-	-	-	-
Harina de espelta	-	-	-	-	16,16	11,27
Sémola de espelta	-	-	-	-	17,08	30,53

*TBARS (Método de Ácido Tiobarbitúrico), *NBVT (Nitrógeno Básico Volátil Total)

La Organización Mundial de la Salud (OMS, 2016) recomienda un consumo de sal inferior a 5,00 g por persona y día, con la finalidad de contribuir en la disminución de la tensión arterial y el riesgo de enfermedades cardiovasculares. El contenido salino de las materias primas de acuerdo con los datos presentados por la Base de Datos Española de Composición de Alimentos (BEDCA, 2019) son adecuados considerando las proporciones en las que se incorpora a la pasta. Por lo tanto, teniendo en cuenta las proporciones utilizadas en la elaboración de las pastas, los valores que se obtengan en el producto final estarán de acuerdo con las recomendaciones. En cuanto a los resultados del índice de TBARS se encontraron por debajo de 1-2 mg MDA/kg de producto (Marcuse y Johansson, 1973), a partir de estos valores el nivel de oxidación tendría una influencia negativa en las propiedades del alimento. Respecto a los valores de Nitrógeno Básico Volátil Total (NBVT) fueron satisfactorios al encontrarse por debajo de 35 mg/100 g de pescado fresco que corresponde al límite establecido en el Reglamento (CE) 1022/2008.

5.1.2. Fabricación de pastas

A partir de la materia prima se elaboraron los diferentes tipos de pasta en formato *fusilli* como se ha comentado en el apartado 4.2. De esta manera, se obtuvieron 8 tipos de pasta que a efectos de diseño experimental fueron denominados de acuerdo con el tipo de pasta, el tratamiento aplicado y el método de almacenamiento (ver Tabla 4).

Tabla 4. Tipos de pastas elaboradas en el trabajo.

Código	Tipo (formulación)	Tratamiento	Método de conservación
MCF	Marina	Control	Fresca
MCS			Seca
MAF		Antioxidante	Fresca
MAS			Seca
F10CF	F10	Control	Fresca
F10CS			Seca
F10AF		Antioxidante	Fresca
F10AS			Seca

5.2. Caracterización nutricional

Este estudio tuvo como propósito comprobar que la adición de concentrados de lubina y de otros ingredientes farináceos en las pastas alimenticias mejoran su valor nutricional.

5.2.1. Análisis proximal y valor energético

La composición nutricional de las pastas desarrolladas se muestra en la Tabla 5.

Tabla 5. Composición nutricional (%) de las pastas elaboradas en el estudio.

Pasta	Humedad	Grasa	Proteína	Fibra	Cenizas	Carbohidratos	Kcal/100g
MC	9,50 ± 0,01	2,89 ± 0,08	19,30 ± 0,10	1,27 ± 0,21	4,60 ± 0,10	62,43 ± 0,23	348
MA	9,50 ± 0,01	2,58 ± 0,01	19,72 ± 0,09	1,23 ± 0,01	4,16 ± 0,81	64,82 ± 0,77	345
F10C	11,50 ± 0,01	4,80 ± 0,07	19,65 ± 0,59	9,25 ± 0,95	3,21 ± 0,43	51,59 ± 0,09	328
F10A	11,50 ± 0,01	5,15 ± 0,02	19,55 ± 0,12	8,63 ± 0,03	3,39 ± 0,17	51,78 ± 0,49	331

MC: Marina control, MA: Marina antioxidante, F10C: F10 control, F10A: F10 antioxidante

En la mayoría de los parámetros nutricionales se observa un incremento con la adición de los concentrados de lubina. En cuanto a la grasa, este aumento se produce desde un 1,44%, valor habitual para la pasta común, a unos valores de 2,58 y 5,15% lo que implica un enriqueciendo considerable en lo que ácidos grasos se refiere. Con respecto a la proteína, en todos los tipos de pasta elaborados se superó el valor de

12,50% alcanzando un valor promedio de 19,55%. Como resultado del aumento de proteína y grasa, se produce un descenso en el contenido de carbohidratos hasta un 51,59 y 64,82% en pasta Marina y F10, respectivamente. Para la pasta común, dichos valores suelen ser menores al 70,90% en pasta *Durum* y al 66,20% en pasta de Espelta (BEDCA, 2019).

La fibra ha sido otro de los componentes que se ha tenido muy en cuenta en este estudio. Como cabría esperar, la pasta F10 presenta un contenido en fibra casi 9 veces mayor que en la pasta Marina superando así el valor establecido en el etiquetado comercial de pasta de espelta (8,00%) aunque sin llegar a alcanzar el valor proporcionado por la BEDCA (2019) de 11,50%. Este valor es consecuencia de la adición de fibra mediante la incorporación de la harina y el salvado de espelta que han sido usados en la formulación F10. El contenido de cenizas fue significativamente mayor ($p>0,05$) para la formulación Marina, lo cual podría deberse a un mayor contenido en sal posiblemente incorporado mediante el caldo de pescado. La Figura 4 presenta la comparación entre los dos tipos de pasta según sus composiciones.

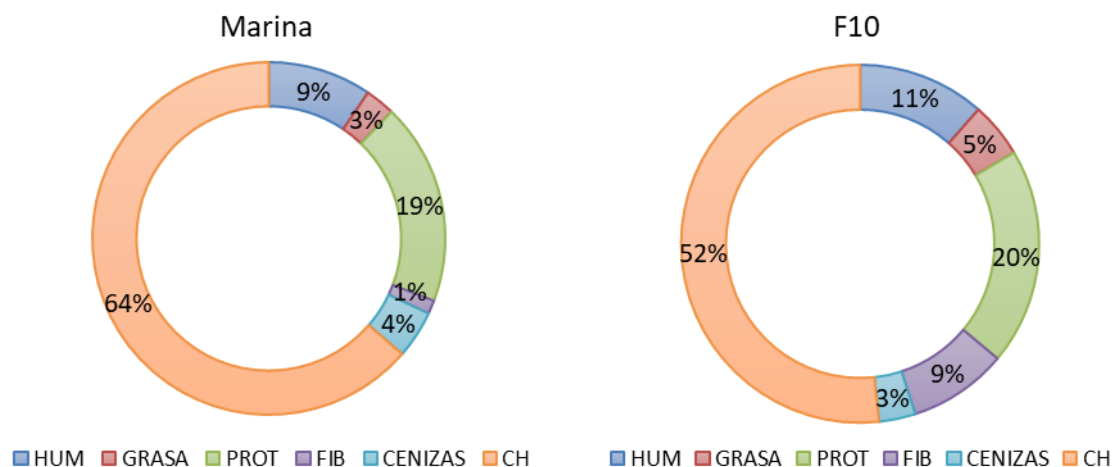


Figura 4. Composición nutricional (%) en las pastas elaboradas.

Las pastas elaboradas son ricas en carbohidratos destacando en ellas el aporte de proteína de alto valor biológico además de un incremento en lípidos obteniendo así, una pasta rica en ácidos grasos ω -3 y ω -6 lo que da una mayor calidad a los productos y unas propiedades beneficiosas para la salud (Calanche *et al.*, 2019).

5.3. Perfil de ácidos grasos

Los resultados completos de los perfiles de ácidos grasos de las pastas estudiadas se muestran en el Anexo I. En este estudio, se seleccionaron exclusivamente aquellos ácidos grasos que se detectaron en mayor cuantía y con interés debido a su valor nutricional y beneficios para la salud. Estos fueron clasificados en dos grupos, los procedentes mayoritariamente del pescado (ácido palmítico, ALA, EPA y DHA) y los procedentes de los cereales (ácido oleico y ácido linoleico). Esta selección fue comprobada mediante un análisis factorial sin rotación, previa comprobación del test de esfericidad de Bartlett, el cual resultó significativo ($p < 0,05$) y verificando el peso de cada ácido graso en cada dimensión representada. Además de tener en cuenta la medida de adecuación muestral estableciendo el valor de KMO (Kaiser-Meyer-Olkin), el cual confirmó que todos los ácidos grasos seleccionados cumplían con el valor aceptado como satisfactorio ($\geq 0,7$).

5.3.1. Estabilidad en el tiempo de los ácidos grasos

Se llevó a cabo un análisis de componentes principales (ACP) como método exploratorio para estudiar las relaciones entre las variables durante el tiempo de almacenamiento. A tales efectos, para la construcción de los gráficos (*bi-plots*) se tomaron en cuenta los ácidos grasos mostrados en la Tabla 6 y que corresponden a aquellos con mayor interés para el estudio.

Tabla 6. Contenido de ácido grasos por tipo de pasta (%).

Tipo	Día	C16	Oleico	Linoleico	ALA	EPA	DHA
MCF	0	15,8 aB	25,2 abA	34,1 abB	3,9 cC	2,3 bcB	3,5 cD
MCF	30	15,6 aB	25,0 aA	34,1 abB	3,8 bC	2,2 aB	3,4 bD
MCF	60	15,7 aB	25,4 abA	34,4 bB	3,9 cC	2,3 cB	3,6 cD
MCF	90	16,9 bB	25,7 bA	32,7 aB	3,7 aC	2,2 abB	3,1 aD
MCS	0	15,0 aAB	24,7 aA	32,3 aAB	3,8 aBC	2,1 aB	3,2 aD
MCS	30	15,6 abAB	26,5 cA	33,9 bAB	3,9 bBC	2,2 aB	3,2 aD
MCS	60	15,6 abAB	25,8 bA	33,4 bAB	3,7 aBC	2,4 bB	3,8 bD
MCS	90	16,4 bAB	26,3 bcA	33,4 bAB	3,8 aBC	2,2 aB	3,3 aD
MAF	0	13,9 aAB	22,1 aA	29,5 aAB	3,4 abABC	2,1 aB	3,2 aE
MAF	30	16,0 cAB	24,9 bA	35,6 cAB	3,9 bABC	2,2 bB	3,5 bE
MAF	60	15,7 bAB	25,3 cA	34,4 bAB	4,0 bABC	2,5 cB	4,2 cE
MAF	90	15,8 bcAB	25,8 dA	34,5 bAB	1,4 aABC	2,5 cB	4,2 cE
MAS	0	13,3 aAB	22,5 aA	28,5 aA	3,4 aBC	2,0 aB	3,1 aCD
MAS	30	16,0 bAB	26,3 cA	33,7 cA	3,9 aBC	2,2 abB	3,2 aCD
MAS	60	15,4 bAB	25,3 bA	34,6 dA	3,9 aBC	2,1 abB	3,4 aCD
MAS	90	17,3 cAB	26,1 cA	32,3 bA	2,5 aBC	2,4 bB	3,4 aCD
F10CF	0	14,0 aA	26,9 aB	31,1 aAB	3,6 bAB	1,9 aA	2,5 aA
F10CF	30	14,7 aA	28,9 bB	33,9 bAB	3,8 bAB	1,9 aA	2,7 aA
F10CF	60	15,2 aA	28,7 bB	34,3 bcAB	3,8 bAB	1,8 aA	2,3 aA
F10CF	90	15,8 aA	29,2 bB	35,4 cAB	0,8 aAB	1,8 aA	2,4 aA
F10CS	0	13,8 aAB	26,9 aB	31,9 aAB	3,5 aBC	1,8 aA	2,5 abA
F10CS	30	14,7 aAB	28,9 abB	34,1 bAB	3,8 aBC	1,9 aA	2,8 abA
F10CS	60	15,5 aAB	29,1 abB	33,8 bAB	3,7 aBC	1,8 aA	2,2 aA
F10CS	90	16,6 aAB	33,0 bB	34,3 bAB	4,1 aBC	2,2 aA	3,1 bA
F10AF	0	13,9 aA	26,6 aB	30,3 aAB	3,4 bA	2,0 aB	2,8 aBC
F10AF	30	15,2 bA	28,3 bB	32,5 bAB	3,7 bA	2,0 abB	2,6 aBC
F10AF	60	15,4 bA	28,8 cB	32,4 bAB	1,9 abA	2,1 bB	2,7 aBC
F10AF	90	14,9 bA	33,3 dB	37,7 cAB	1,2 aA	2,5 cB	3,7 bBC
F10AS	0	14,0 aAB	26,7 aB	30,3 aA	3,4 aABC	1,9 aA	2,7 aAB
F10AS	30	15,0 abAB	28,6 bB	32,5 bA	3,6 aABC	2,1 aA	2,8 aAB
F10AS	60	15,9 bAB	28,7 bB	32,9 bcA	3,6 aABC	1,9 aA	2,5 aAB
F10AS	90	15,9 bAB	29,2 bB	33,3 cA	2,4 aABC	2,0 aA	2,6 aAB

MCF: Marina control fresca, MCS: Marina control seca, MAF: Marina antioxidante fresca, MAS: Marina antioxidante seca, F10CF: F10 control fresca, F10CS: F10 control seca, F10AF: F10 antioxidante fresca, F10AS: F10 antioxidante seca

Las letras minúsculas muestran diferencias significativas ($p<0,05$) en ácidos grasos a través del tiempo en cada tipo de pasta y las letras mayúsculas muestran diferencias significativas ($p<0,05$) entre ácidos grasos para los distintos tipos de pasta.

En la tabla se puede ver que en el caso de MAF hay un aumento en el contenido de EPA y DHA que se corresponde con la disminución del contenido de ALA, aunque esta disminución es más drástica de lo que se esperaría. En cuanto a F10AF, el ALA disminuye significativamente en el día 90 mientras que EPA y DHA aumentan sus contenidos debido a la conversión de ALA a EPA y DHA siendo más eficiente para

EPA (Morales *et al.* 2012). Por otra parte, cabe destacar que en MCF hay una disminución de ALA y DHA, sin embargo, en el caso de EPA no sigue esta tendencia como sería esperable y parece que se mantiene en el tiempo habiendo experimentado un aumento puntual y significativo en el día 60. Respecto a las pastas F10, hay que destacar una pérdida significativa de ALA en el tratamiento F10CF lo que podría deberse a un error en la marcha analítica y un incremento de EPA en F10AF en el día 90 que podría ser consecuencia de una conversión del ALA como ya se ha comentado anteriormente. En general, se puede observar que para ambos tipos de pasta el ALA presenta una disminución en el tiempo en muchos casos significativa lo que se entendería sabiendo que se trata de un ácido graso poliinsaturado y por tanto, sus insaturaciones le proporcionan una gran reactividad química y lo hacen susceptible a la saturación, transformaciones oxidativas y de isomerización (Badui, 2006).

En la Figura 5 se muestra el ACP correspondiente al día inicial de la vida útil que describe un 94,99% de la variación general en sus dos primeras componentes (F1 y F2).

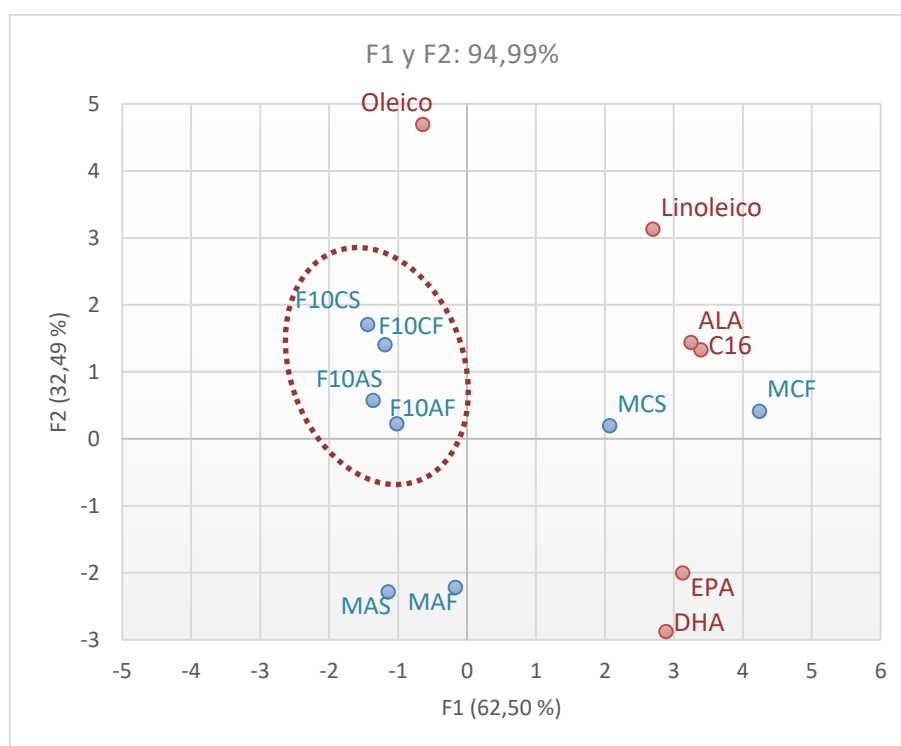


Figura 5. ACP para los ácidos grasos en cada tipo de pasta en el día 0.

MCF: Marina control fresca, MCS: Marina control seca, MAF: Marina antioxidante fresca, MAS: Marina antioxidante seca, F10CF: F10 control fresca, F10CS: F10 control seca, F10AF: F10 antioxidante fresca, F10AS: F10 antioxidante seca

En primer lugar, resalta la agrupación de las pastas F10 que claramente se encuentran asociadas con la presencia de ácido oleico ya que se trata de un ácido procedente principalmente de harinas, y como se ha mencionado con anterioridad esta pasta tiene una composición mayoritariamente farinácea. Por su parte, las pastas Marina no muestran una única agrupación, pero a diferencia, se separan muy bien aquellas con adición de antioxidante de los tratamientos Control. De igual forma, y tomando en cuenta la segunda componente, se diferencian muy bien los ácidos monoinsaturados de los poliinsaturados (EPA y DHA), estos últimos se relacionan muy bien con las pastas Marina con adición de antioxidante (MAF y MAS).

Por su parte, las Marina control (MCS y MCF) se ubican próximas tanto al ácido palmítico como al ALA.

En la Figura 6 se muestra el comportamiento de los ácidos grasos a los 30 días de almacenamiento. En este caso el APC describe un 92,04% de la variación y como puede observarse existió una clara diferenciación en la primera componente para los dos tipos de pasta. En tal sentido, las pastas F10 se situaron en el lado izquierdo y las Marina en el lado derecho. El ácido oleico continúa asociado con las pastas F10 tal y como se observó en el tiempo inicial. Sin embargo, se produce una separación en la segunda componente, que discrimina los controles de los tratamientos antioxidantes.

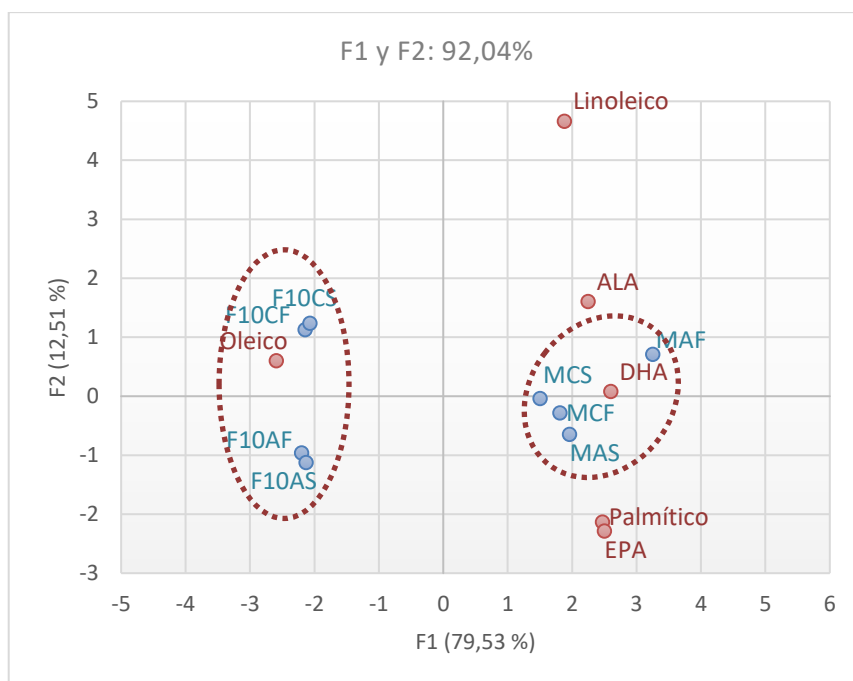


Figura 6. ACP para los ácidos grasos en cada tipo de pasta en el día 30.

MCF: Marina control fresca, MCS: Marina control seca, MAF: Marina antioxidante fresca, MAS: Marina antioxidante seca, F10CF: F10 control fresca, F10CS: F10 control seca, F10AF: F10 antioxidante fresca, F10AS: F10 antioxidante seca

Por otro lado, los ácidos grasos presentes en el pescado (palmítico, ALA, EPA y DHA) se encuentran claramente asociados con la pasta Marina, la cual tiene un mayor contenido de pescado en su composición. Parece que esta pasta presenta un mayor contenido de ALA y DHA que de EPA. Según el tipo de pasta (ver Tabla 6), ALA y EPA no presentan diferencias significativas ($p < 0,05$) entre las pastas Marina mientras que DHA es mayor significativamente para MAF.

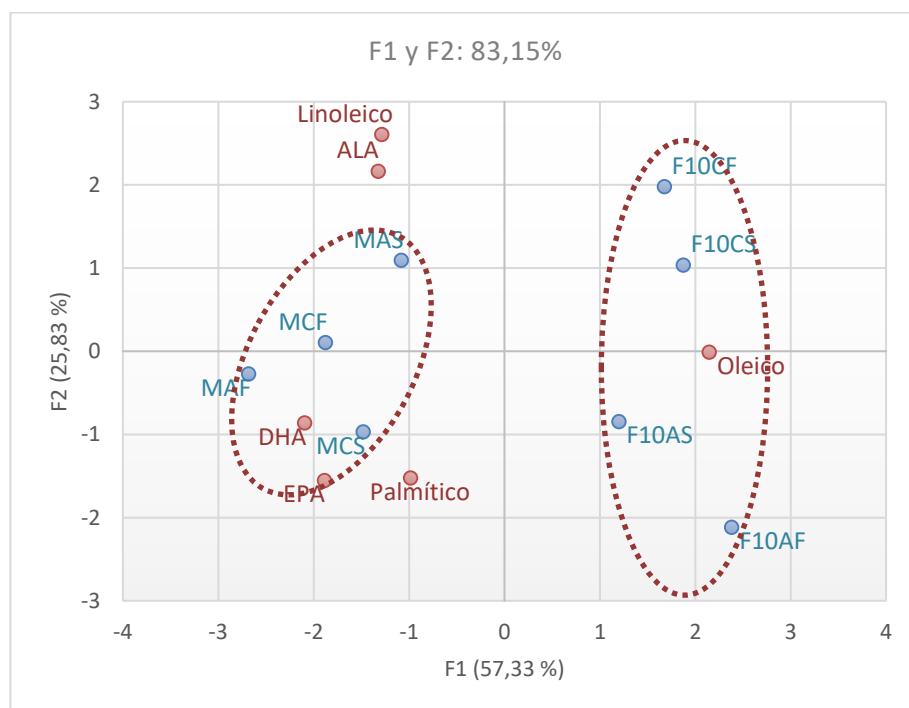


Figura 7. ACP para los ácidos grasos en cada tipo de pasta en el día 60.

MCF: Marina control fresca, MCS: Marina control seca, MAF: Marina antioxidante fresca, MAS: Marina antioxidante seca, F10CF: F10 control fresca, F10CS: F10 control seca, F10AF: F10 antioxidante fresca, F10AS: F10 antioxidante seca

Tras 60 días desde el inicio del estudio, en la Figura 7 se muestra el ACP que recoge un 83,15% de la variación para este tiempo. Como se aprecia, los tipos de pasta siguen un comportamiento similar al establecido en 30 días. En el lado derecho del ACP se encuentran las pastas F10 agrupadas en la primera componente y relacionadas con la presencia de ácido oleico mientras que, en la segunda componente, estas se separan de manera notable según la adición o no de antioxidante presentando diferencias significativas para el contenido de EPA en F10AF respecto del resto de F10. Por otro lado, la pasta Marina se sitúa en el lado izquierdo del gráfico. Este tipo de pastas se encuentran relacionadas con el ácido palmítico, EPA y DHA.

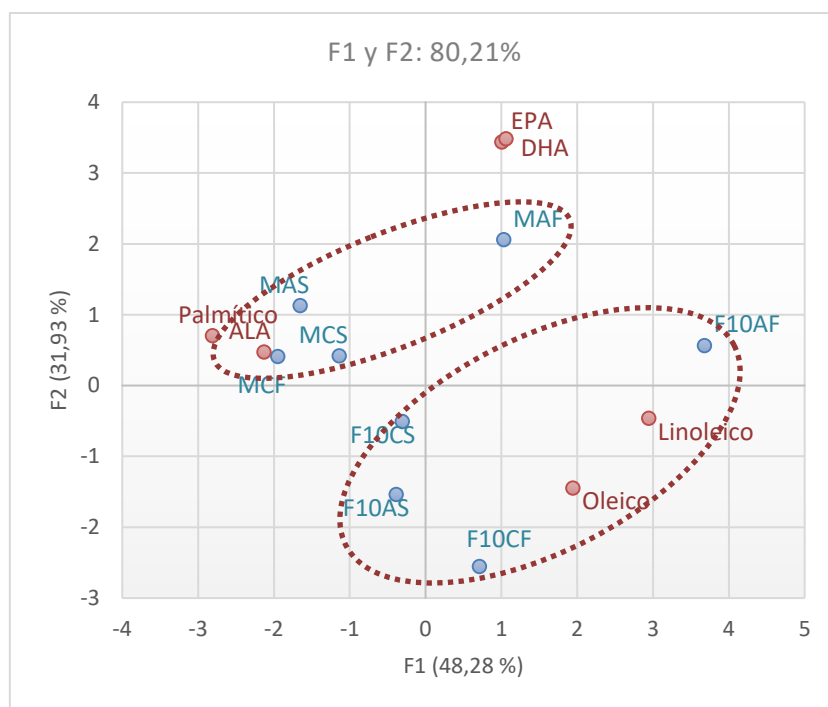


Figura 8. ACP para los ácidos grasos en cada tipo de pasta en el día 90.

MCF: Marina control fresca, MCS: Marina control seca, MAF: Marina antioxidante fresca, MAS: Marina antioxidante seca, F10CF: F10 control fresca, F10CS: F10 control seca, F10AF: F10 antioxidante fresca, F10AS: F10 antioxidante seca

La Figura 8 corresponde al ACP para los 90 días de almacenamiento. En este caso, las componentes 1 y 2 describen el 80,21% de la variación. Como se puede apreciar, los tipos de pasta han sufrido una dispersión formando dos grupos muy bien diferenciados. En la primera componente, las pastas F10 se agrupan entre ellas y se asocian tanto al ácido oleico como al linoleico. Por otro lado, tanto en la primera como en la segunda componente, las pastas Marina en su mayoría, exceptuando a MAF, se encuentran agrupadas y diferenciadas de las F10. La pasta MAF, se relaciona estrechamente con los ácidos EPA y DHA mientras que el resto de Marina lo hacen con palmítico y ALA. En ambos tipos de pasta, parece que el tratamiento antioxidante en el método de conservación fresco tiene un comportamiento diferente al del resto de pastas debido a las diferencias significativas ($p < 0,05$) en el contenido de DHA para las pastas Marina y en el contenido de EPA para las F10.

Tanto en Marina como F10 el tiempo de 90 días es significativamente diferente del resto como se puede ver en la Tabla 6 (pág. 23). En algunos casos, como en F10AF, el ALA disminuye mientras que EPA y DHA aumentan. Esta pasta se aleja del resto de F10 y se aproxima a MAF, es decir a EPA y DHA en la segunda componente.

La composición de las pastas determina el comportamiento de sus ácidos grasos a través del tiempo estableciendo claras diferencias entre los tipos Marina y F10. De igual forma, durante el almacenamiento se puede apreciar un comportamiento similar en los tipos de pastas hasta el día 60, a partir del cual comienzan a presentar desarrollos particulares que pueden observarse en el tiempo final del experimento (90 días) donde ya comienzan a aproximarse los tipos de pasta (Marina y F10) pero queda en evidencia la acción de los antioxidantes en las pastas frescas de ambos tipos al encontrarse diferencias significativas ($p<0,05$) para DHA en la Marina y para EPA y DHA en la F10 como se muestra en la Tabla 6. Sin embargo, en términos generales es posible afirmar que la composición de ácidos grasos de importancia en las pastas estudiadas apenas sufrió modificaciones de interés que pudieran repercutir en sus calidades nutricionales durante el tiempo que duró el estudio.

5.4. Evaluación de parámetros físico-químicos

5.4.1. Análisis de ácido tiobarbitúrico (TBARS)

Para cada tipo de pasta se han analizado los valores de TBARS en cada uno de los puntos de muestreo obteniendo los resultados expuestos en la Figura 9.

En la Figura 9A se puede observar la evolución del índice de TBARS durante el almacenamiento para las pastas tipo Marina. Se produce un aumento significativo ($p<0,05$) desde el día 0 al día 60, en la mayoría de los tratamientos a excepción del antioxidante fresco, en este caso se presume que el extracto de romero haya ejercido algún efecto de protección frente a la oxidación lipídica. En el día 60, se incrementaron los valores de oxidación significativamente ($p<0,05$) con respecto a los días anteriores sobre todo en los tratamientos control (fresco/seco) y antioxidante seco. Entre las diferentes pastas, fue el control fresco quién alcanzó un mayor valor de TBARS durante el estudio; en contraste, fue el tratamiento antioxidante fresco quien presentó menor oxidación.

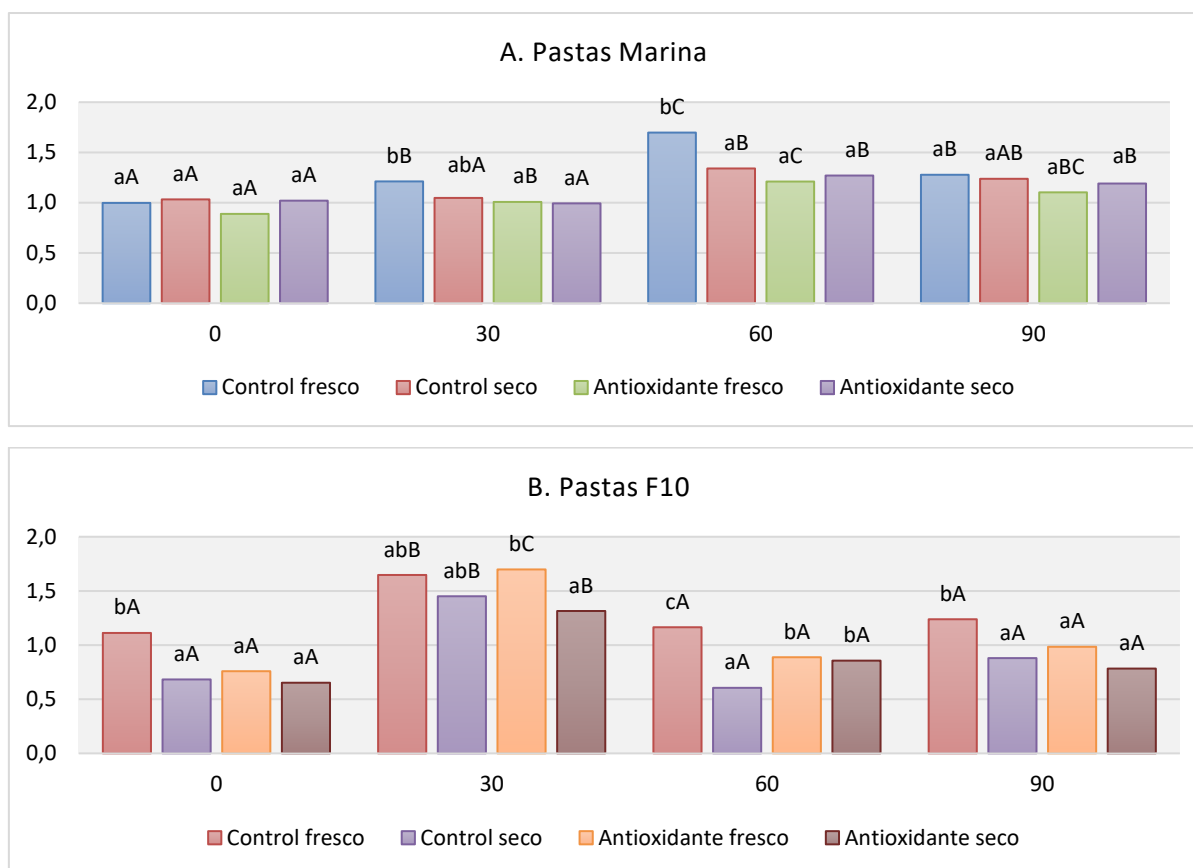


Figura 9. Evolución del índice de TBARS en los dos tipos de pasta.

Las letras minúsculas muestran diferencias significativas ($p < 0,05$) para distintos tratamientos en el mismo tiempo y las letras mayúsculas muestran diferencias significativas ($p < 0,05$) para el mismo tratamiento en el tiempo.

Con relación a la Figura 9B, se observó la misma tendencia en las pastas tipo F10, es decir, un aumento inicial hasta alcanzar valores máximos a los 30 días de almacenamiento, a partir del cual tiende a disminuir. En cuanto a las diferencias entre las pastas F10, la pasta control fresca se diferenció de manera significativa ($p < 0,05$) del resto de pastas siendo la que mayores valores de oxidación presentó. En la pasta F10, la adición del antioxidante pareció ejercer un efecto estabilizante tanto en las pastas frescas como secas.

En ambos tipos de pasta, los resultados obtenidos del índice de TBARS se encontraron por debajo de 2 mg MDA/kg de producto lo que indica que no se debería encontrar una percepción sensorial desfavorable en el alimento (Marcuse y Johansson, 1973).

5.4.2. Índice de acidez (IA)

El índice de acidez indica la cantidad de ácidos grasos libres presentes en una grasa y presenta valores por debajo de 0,25% en todos los casos como se muestra en la Figura 10. Por lo tanto, se obtienen valores que señalan una baja rancidez hidrolítica.

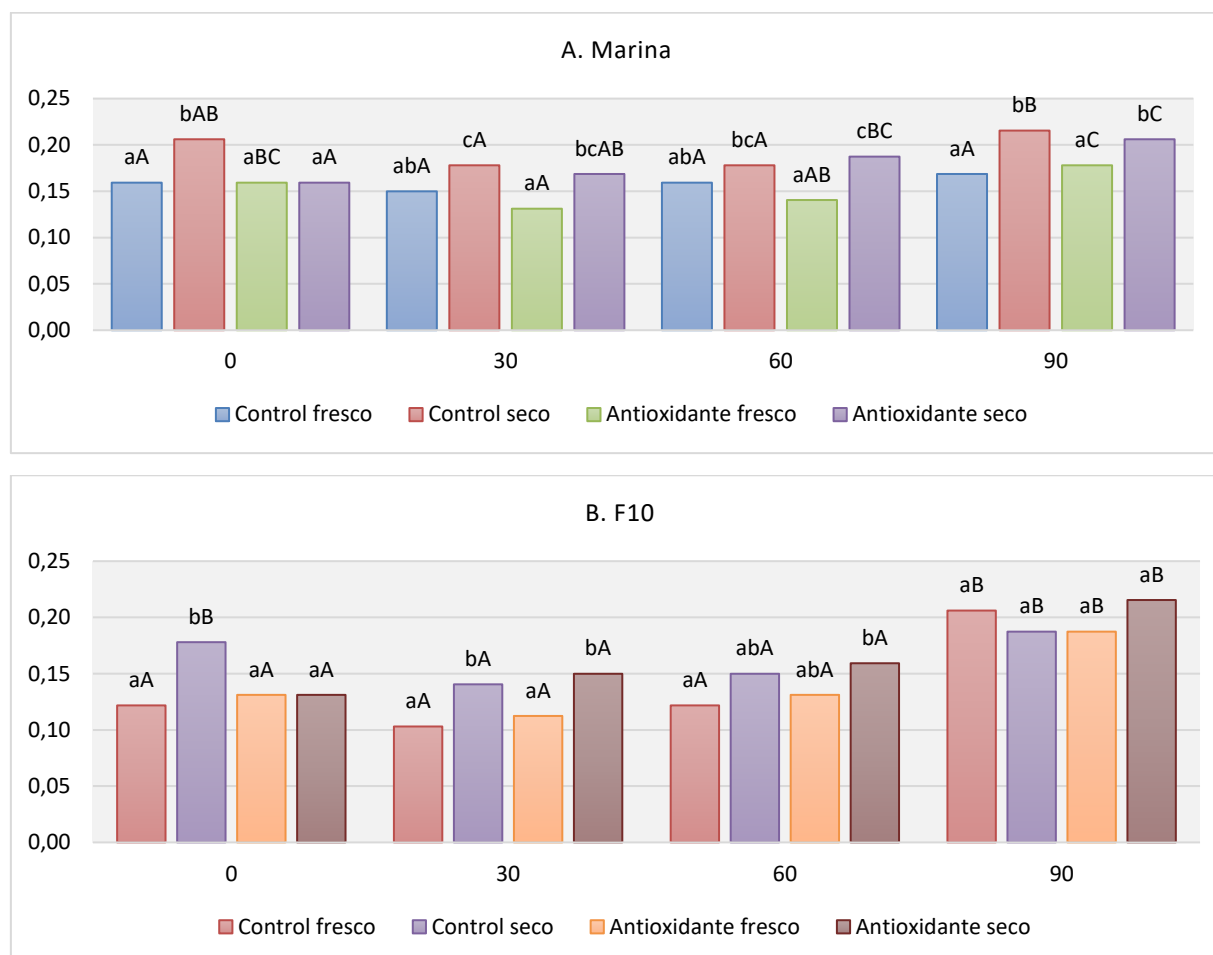


Figura 10. Evolución del índice de acidez en los dos tipos de pasta.

Las letras minúsculas muestran diferencias significativas ($p < 0,05$) para distintos tratamientos en el mismo tiempo y las letras mayúsculas muestran diferencias significativas ($p < 0,05$) para el mismo tratamiento en el tiempo.

En la Figura 10A se muestran los valores de la pasta Marina. El tratamiento control seco presentó valores mayores de IA durante todo el estudio mientras que el control fresco permaneció estable lo cual puede deberse a que el método de conservación seco presenta una temperatura mayor lo que favorece la hidrólisis de los triacilglicéridos (Badui, 2006). En la pasta fresca con adición de antioxidante, el IA disminuyó durante los primeros 30 días, pero luego exhiben un aumento para los tiempos de 60 y 90 días. Finalmente, en cuanto a la pasta seca con antioxidante se muestra un aumento progresivo en el tiempo alcanzando los mayores valores a 90 días.

Respecto a la pasta F10 (Figura 10B), se vuelven a encontrar los mayores valores de IA para el método de conservación seco, sin embargo, en el día 90 no hay diferencias significativas ($p<0,05$) entre los tratamientos y métodos de almacenamiento. El IA en la pasta control fresca disminuyó en los primeros 30 días, pero luego se produjo un aumento a partir del día 60. En el resto de los tratamientos se muestra una estabilidad durante los primeros 60 días para experimentar un aumento significativo ($p<0,05$) en el día 90.

5.4.3. Actividad de agua (a_w)

Los resultados de la actividad de agua se muestran en la Figura 11.

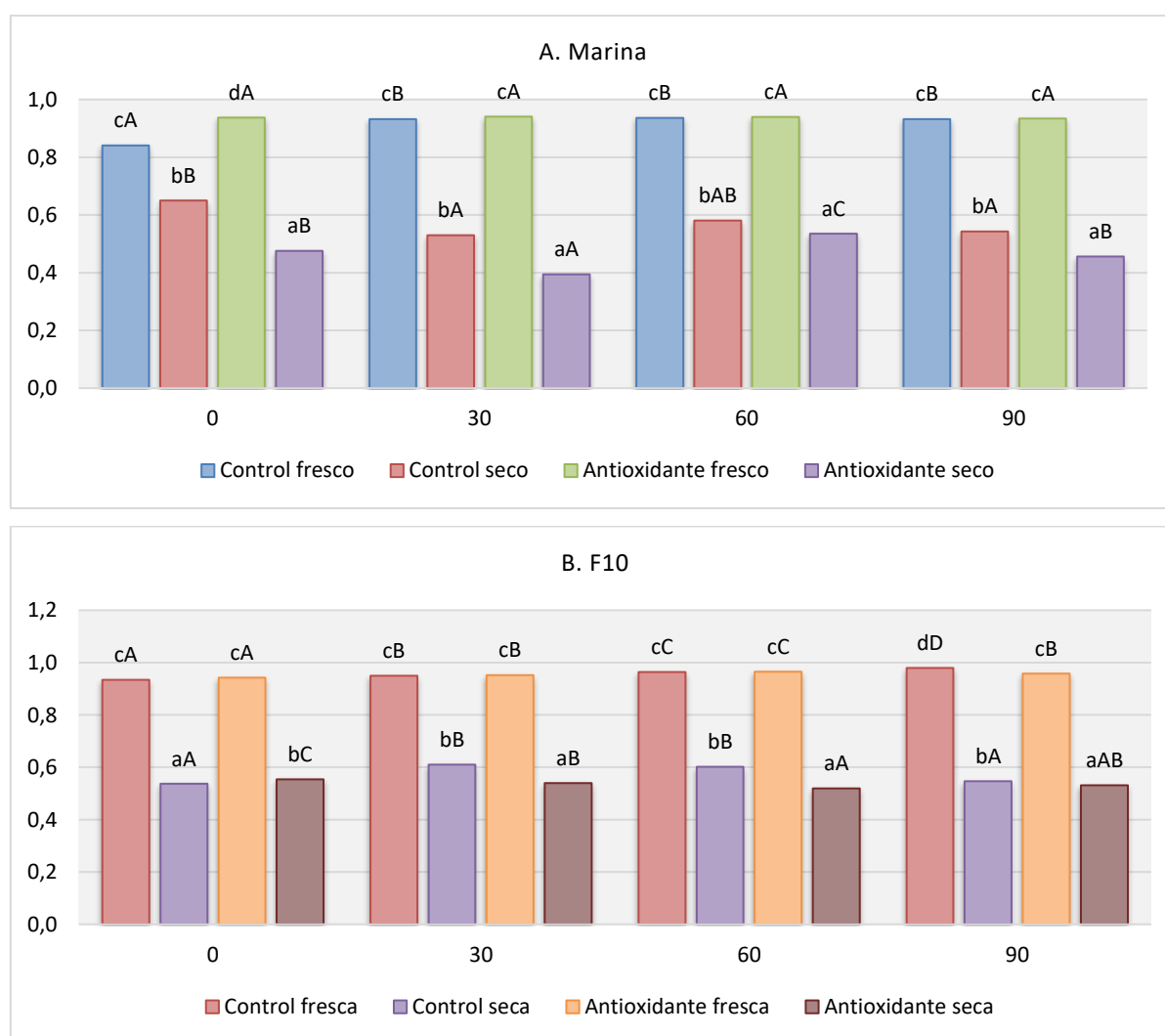


Figura 11. Evolución de la actividad de agua en el tiempo de los dos tipos de pasta.

Las letras minúsculas muestran diferencias significativas ($p<0,05$) para distintos tratamientos en el mismo tiempo y las letras mayúsculas muestran diferencias significativas ($p<0,05$) para el mismo tratamiento en el tiempo.

Los valores obtenidos fueron de aproximadamente 0,90 para las pastas frescas y de 0,50 para las pastas secas. Esto indica que las pastas frescas al contener una a_w elevada son más susceptibles al desarrollo microbiano permitiendo así el crecimiento de bacterias por lo que se debe conservar en congelación si se desea una conservación prolongada, mientras que las pastas secas al tener una baja a_w dificulta el crecimiento de microorganismo, especialmente patógenos, y prolonga su vida útil lo que hace posible la conservación a temperatura ambiente (Qiu *et al.*, 2019).

5.4.4. Nitrógeno Básico Volátil Total (NBVT)

Para cada tipo de pasta se han analizado los valores de NBVT en cada uno de los puntos de muestreo obteniendo así los resultados representados en la Figura 12.

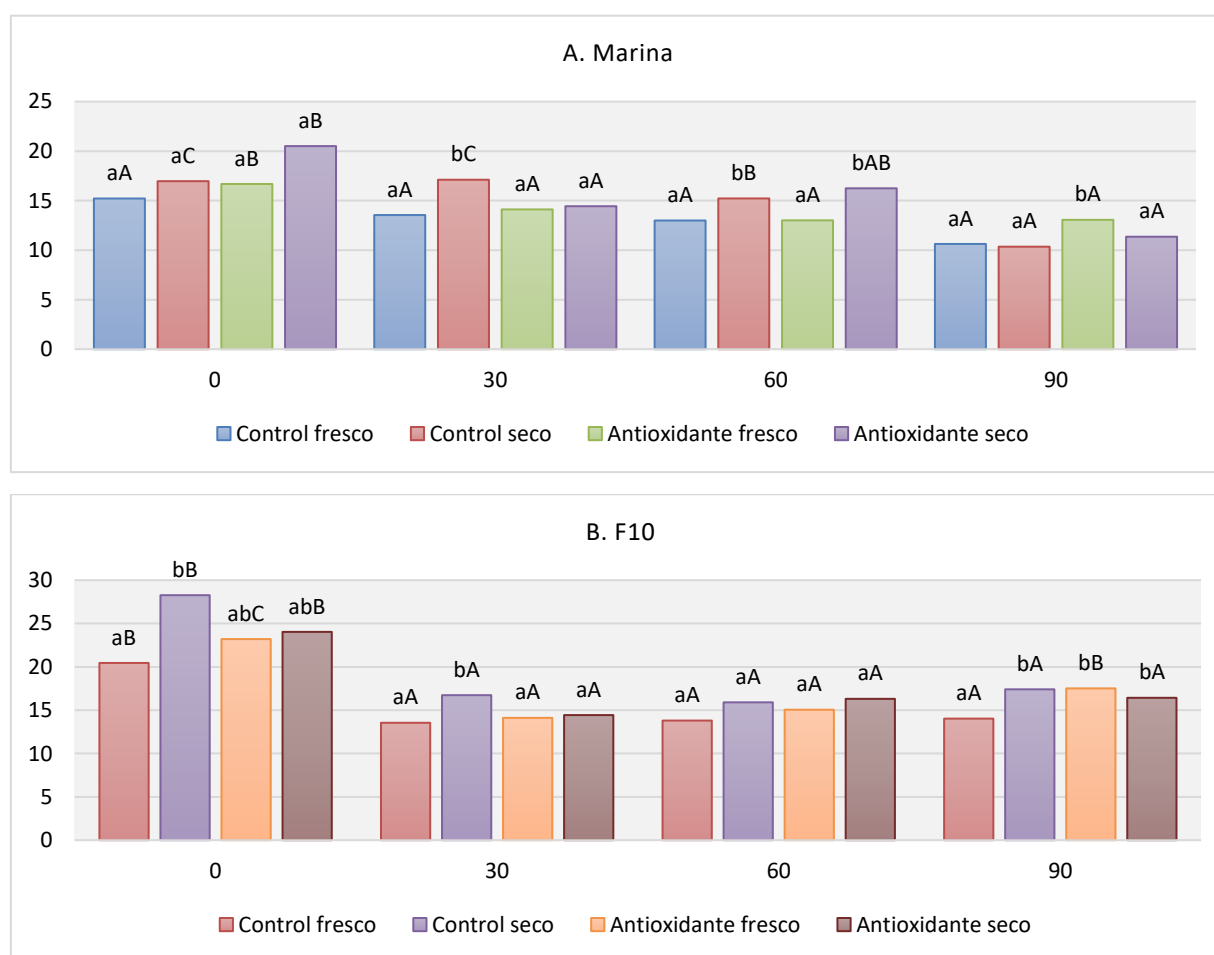


Figura 12. Evolución del índice del NBVT en el tiempo de los dos tipos de pasta.

Las letras minúsculas muestran diferencias significativas ($p < 0,05$) para distintos tratamientos en el mismo tiempo y las letras mayúsculas muestran diferencias significativas ($p < 0,05$) para el mismo tratamiento en el tiempo.

El Nitrógeno Básico Volátil Total (NBVT) disminuye a medida que avanza el tiempo de almacenamiento tal y como se aprecia en la Figura 12 para ambos tipos de pastas (A y B). Esta reducción se debe principalmente a la composición de las pastas ya que contienen una moderada proporción de pescado (10%) que representa la fracción responsable de aportar sustancias capaces de liberar nitrógeno no volátil que, tras disminuir la actividad microbiana, debido a las condiciones de conservación, comienzan a disminuir en cuantía.

En la Figura 12A que representa el NBVT en las pastas Marina solamente existieron diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los métodos de conservación (fresco/seco) tanto en los controles como en los tratamientos antioxidantes. En este orden de ideas, la Figura 12B muestra diferencias significativas ($p < 0,05$) en las pastas F10 en los primeros 30 días de conservación para todos los tratamientos y a partir de ese punto permanece constante en el tiempo.

5.4.5. Parámetros de Calidad y evolución durante el almacenamiento

En el análisis de la vida útil y su efecto sobre la calidad nutricional de las pastas elaboradas, especialmente en lo que respecta a sus contenidos de ácidos grasos insaturados, se han relacionado parámetros de calidad físico-químicos con los porcentajes obtenidos para los distintos grupos de ácidos grasos y sus respectivos ratios (Tabla 7).

En primer lugar, se desarrolló una prueba de correlación de Pearson entre los porcentajes de ácidos grasos y los ratios de mayor importancia por cada una de las pastas elaboradas. Dicho análisis demostró relaciones lineales moderadas y significativas en algunas variables. Por tal razón, y para comprender de una forma más clara la relación entre estas variables, se realizó un ACP por tipo de pasta elaborada (Marina y F10) que consideró de forma global, todos los tiempos de muestreo preestablecidos.

Tabla 7. Indicadores y parámetro físico-químicos de las pastas desarrolladas

TRAT.	DIA	%SFA	%MUFA	%PUFA	% Total UFA	% Total UFA +SFA	mg ω -3 / 100 g	TBARS (mg MDA/kg)	IA (g oleico/ 100g)	a _w	NBVT (mg/ 100 g)
MCF	0	20,80	31,91	46,32	78,23	99,03	241,20	1,00	0,16	0,84	15,21
MCS	0	24,55	31,30	43,71	75,00	99,55	283,16	1,03	0,21	0,65	16,96
MAF	0	23,19	28,07	40,41	68,49	91,68	204,22	0,89	0,16	0,94	16,68
MAS	0	20,12	28,58	39,73	68,31	88,43	240,23	1,02	0,16	0,48	20,50
MCF	30	22,82	31,61	45,58	77,18	100,00	240,01	1,21	0,15	0,93	13,54
MCS	30	21,08	33,53	45,39	78,92	100,00	288,46	1,05	0,18	0,53	17,11
MAF	30	21,22	31,47	47,31	78,78	100,00	307,49	1,01	0,13	0,94	14,11
MAS	30	21,17	33,41	45,42	78,83	100,00	341,34	0,99	0,17	0,39	14,43
MCF	60	21,66	31,97	46,28	78,25	99,91	212,27	1,70	0,16	0,94	12,99
MCS	60	21,21	32,71	45,97	78,68	99,89	315,10	1,34	0,18	0,58	15,22
MAF	60	20,71	32,06	47,18	79,24	99,95	243,10	1,21	0,14	0,94	13,01
MAS	60	21,95	32,04	45,96	78,00	99,95	283,98	1,27	0,19	0,53	16,24
MCF	90	22,17	32,76	44,14	76,90	99,08	178,55	1,28	0,17	0,93	10,62
MCS	90	21,51	33,42	45,07	78,49	100,00	250,07	1,24	0,22	0,54	10,35
MAF	90	20,96	35,33	43,71	79,04	100,00	169,11	1,10	0,18	0,93	13,06
MAS	90	22,63	34,06	43,31	77,37	100,00	267,31	1,19	0,21	0,46	11,36
F10CF	0	19,34	33,58	40,84	74,42	93,76	323,96	1,11	0,12	0,93	20,45
F10CS	0	18,53	32,87	42,31	75,18	93,71	434,41	0,68	0,18	0,54	28,27
F10AF	0	18,66	33,22	41,00	74,22	92,88	391,34	0,76	0,13	0,94	23,20
F10AS	0	18,84	33,44	40,96	74,40	93,24	478,27	0,65	0,13	0,55	24,03
F10CF	30	19,66	35,97	44,37	80,34	100,00	383,14	1,65	0,10	0,95	13,54
F10CS	30	19,47	36,02	44,51	80,53	100,00	541,62	1,45	0,14	0,61	16,73
F10AF	30	21,55	35,50	42,98	78,49	100,04	377,41	1,70	0,11	0,95	14,11
F10AS	30	20,83	35,89	43,28	79,17	100,00	600,05	1,31	0,15	0,54	14,43
F10CF	60	20,29	35,59	44,09	79,68	99,97	348,00	1,16	0,12	0,96	13,80
F10CS	60	20,65	36,02	43,26	79,28	99,93	547,82	0,61	0,15	0,60	15,90
F10AF	60	20,59	36,10	41,51	77,61	98,20	438,91	0,89	0,13	0,97	15,05
F10AS	60	21,15	35,74	43,02	78,76	99,91	580,62	0,86	0,16	0,52	16,31
F10CF	90	20,45	37,52	42,53	80,05	100,51	251,82	1,24	0,21	0,98	14,03
F10CS	90	20,31	38,26	41,43	79,69	100,00	595,16	0,88	0,19	0,55	17,41
F10AF	90	18,67	39,22	42,11	81,33	100,00	481,11	0,98	0,19	0,96	17,51
F10AS	90	20,68	36,87	42,45	79,32	100,00	382,60	0,78	0,22	0,53	16,43

MCF: Marina control fresca, MCS: Marina control seca, MAF: Marina antioxidante fresca, MAS: Marina antioxidante seca, F10CF: F10 control fresca, F10CS: F10 control seca, F10AF: F10 antioxidante fresca, F10AS: F10 antioxidante seca; TBARS (Método de Ácido Tiobarbitúrico), IA (índice de acidez), NBVT (Nitrógeno Básico Volátil Total)

El ACP representado en la Figura 13, recoge en sus dos primeras componentes (F1 y F2) el 99,41% de la variación del estudio. Los diferentes días de análisis por cada tipo de pasta se presentan en el plano, junto con los parámetros físico-químicos con el fin de establecer asociaciones de interés lo que indica un cambio en el tiempo para las

pastas Marina en este caso. En primer lugar, destaca la clara separación que muestran todas las pastas Marina a través del tiempo. En tal sentido, en la primera componente (F1) destaca la diferenciación basada en el método de conservación; de esta forma, la mayoría de las pastas frescas se ubican en el lado izquierdo mientras que las secas lo hacen hacia el derecho. Por su parte, en la segunda componente (F2) se produce una clara separación debido al tiempo de almacenamiento que se presenta de forma progresiva desde la parte inferior derecha del plano, donde se ubica el tiempo inicial, hacia la parte superior izquierda donde se localizan los tiempos finales (90 días).

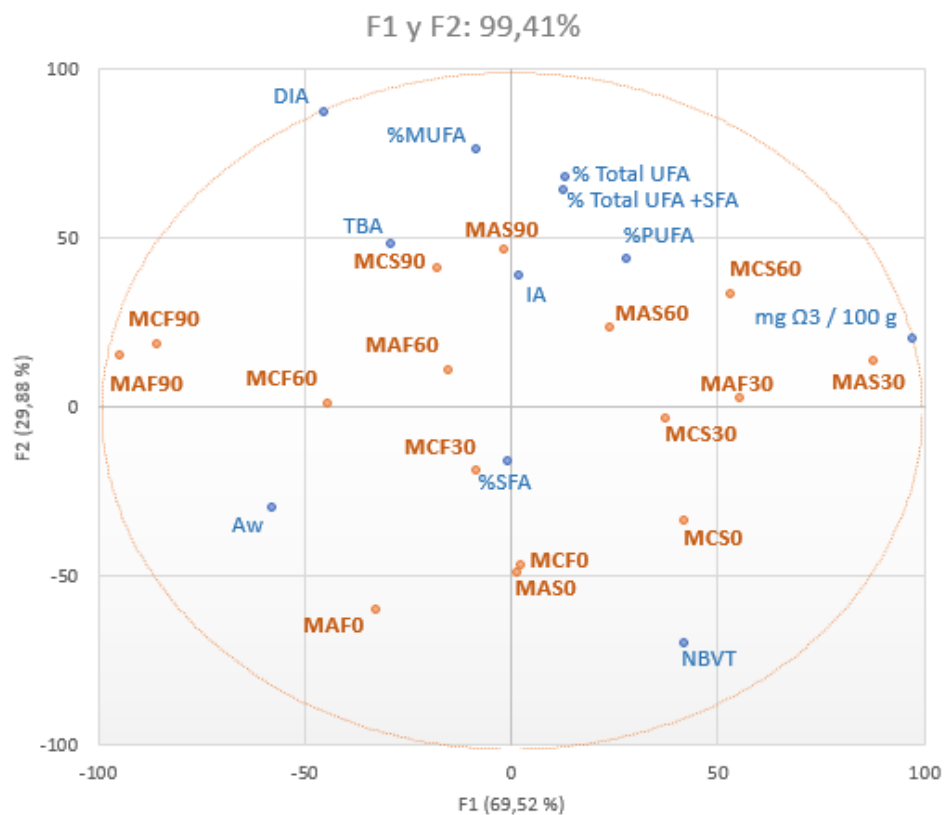


Figura 13. ACP para la formulación Marina.

MCF0: Marina control fresca día 0, **MCS0:** Marina control seca día 0, **MAF0:** Marina antioxidante fresca día 0, **MAS0:** Marina antioxidante seca día 0, **MCF30:** Marina control fresca día 30, **MCS30:** Marina control seca día 30, **MAF30:** Marina antioxidante fresca día 30, **MAS30:** Marina antioxidante seca día 30, **MCF60:** Marina control fresca día 60, **MCS60:** Marina control seca día 60, **MAF60:** Marina antioxidante fresca día 60, **MAS60:** Marina antioxidante seca día 60, **MCF90:** Marina control fresca día 90, **MCS90:** Marina control seca día 90, **MAF90:** Marina antioxidante fresca día 90, **MAS90:** Marina antioxidante seca día 90

El día inicial (0) de análisis (cuadrantes III -inferior izquierda- y IV -inferior derecha-) está relacionado principalmente a los mayores valores de NBVT ya que se trata de un alimento al que se le ha adicionado pescado. No obstante, representa apenas

el 10% de su composición y los tratamientos de conservación aplicados disminuyen la presencia de bacterias típicas que puedan producir sustancias volátiles por lo que este parámetro disminuirá con el tiempo. A los 30 días de estudio se presenta un comportamiento similar al del día inicial. En este punto hay un predominio de la actividad de agua (a_w) que se encuentra en valores mayores en el método de conservación fresco como es de esperar, así mismo se aprecia la presencia de ácidos grasos saturados (%SFA) y de la composición en ω -3/100g.

El día 60 de estudio se encuentra en los cuadrantes superiores diferenciándose del día de inicio del experimento. Este punto se sitúa próximo a los ω -3/100 g de alimento, del índice de acidez y los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) debido a la disponibilidad de los ácidos grasos comentados anteriormente. Los ácidos grasos con el tiempo sufren una reacción llamada lipólisis en la cual se hidroliza el enlace éster quedando los ácidos grasos libres y expuestos para la posterior oxidación lo que terminará dando valores mayores de TBARS (Badui, 2006). Finalmente, a los 90 días de estudio predomina el TBARS y los ácidos grasos monoinsaturados (MUFA). Estos ácidos grasos son más estables que los poliinsaturados y por tanto se encuentran en mayor medida en el punto final del estudio mientras que los poliinsaturados comienzan a oxidarse. Cabe destacar que los ácidos grasos se encuentran en mayor porcentaje en las pastas secas como cabe esperar ya que las pastas conservadas a temperatura ambiente contienen una menor proporción de agua que las conservadas en frío.

En la Figura 14 se puede ver el comportamiento en la pasta con formulación F10. En este caso, las componentes representan un 99,84% de la variación del experimento. El peso de la primera componente ($\approx 90\%$) es mucho mayor que en la pasta Marina con lo cual queda en evidencia que, en este tipo de pasta, el método de conservación (fresco o seco) es el factor más determinante, claramente asociado al tiempo de almacenamiento.

En el día 0 se observan los mayores valores de NBVT. Como se ha comentado anteriormente, este parámetro tiende a disminuir con el tiempo al igual que en la pasta Marina.

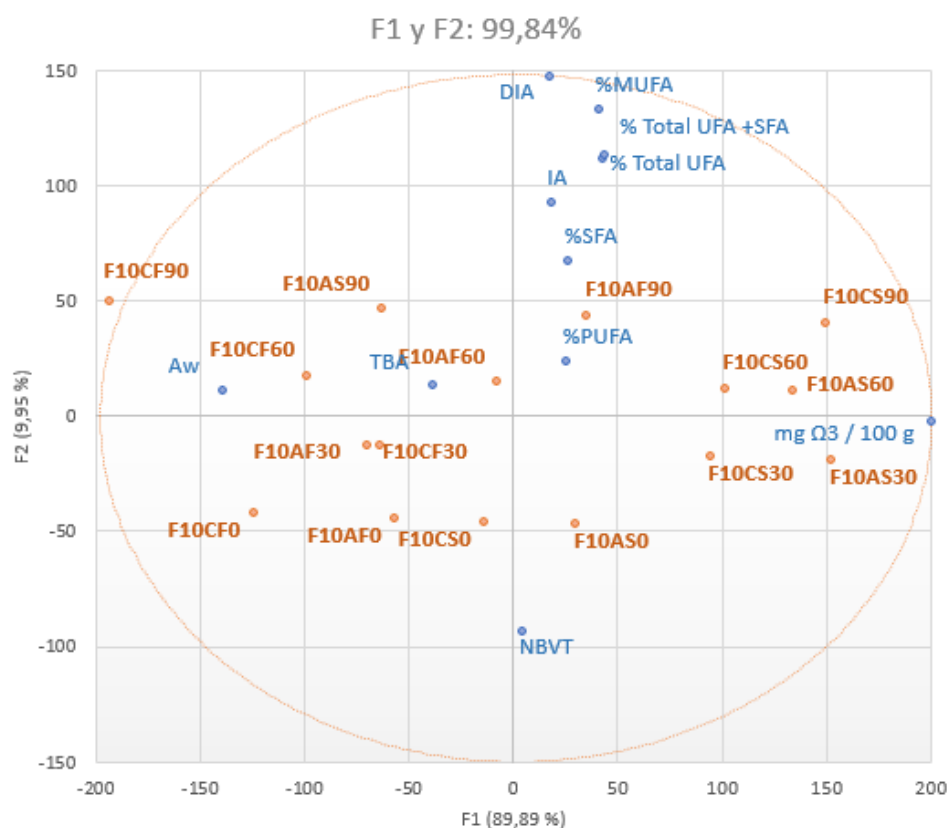


Figura 14. ACP para la formulación F10.

F10CF0: F10 control fresca día 0, **F10CS0:** F10 control seca día 0, **F10AF0:** F10 antioxidante fresca día 0, **F10AS0:** F10 antioxidante seca día 0, **F10CF30:** F10 control fresca día 30, **F10CS30:** F10 control seca día 30, **F10AF30:** F10 antioxidante fresca día 30, **F10AS30:** F10 antioxidante seca día 30, **F10CF60:** F10 control fresca día 60, **F10CS60:** F10 control seca día 60, **F10AF60:** F10 antioxidante fresca día 60, **F10AS60:** F10 antioxidante seca día 60, **F10CF90:** F10 control fresca día 90, **F10CS90:** F10 control seca día 90, **F10AF90:** F10 antioxidante fresca día 90, **F10AS90:** F10 antioxidante seca día 90

En el segundo punto de muestreo (30 días) se presentó un comportamiento similar predominando los mayores valores de ácidos grasos del tipo ω -3/100 g de alimento en las pastas secas debido a su mayor proporción de grasas y menor cantidad de agua. Continuando con el tercer punto analizado (60 días) se puede ver como la actividad de agua (a_w) se posiciona de forma contraria a la composición en ω -3/100 g, mientras que el TBARS y los PUFA parecen aproximarse al origen. Sin embargo, cabe destacar que la pasta F10 se comienza a oxidar antes que la Marina y por tal razón el indicador de la oxidación lipídica se encontró en mayor cuantía a los 60 días de almacenamiento. De igual manera que en la formulación anterior, los ácidos grasos insaturados que son más inestables se encuentran en mayor cantidad en este día 60 tras haber sufrido lipólisis que les permite quedar libres. Por último, en el día 90 predominan, los ácidos grasos saturados (SFA), los ácidos grasos monoinsaturados

(MUFA), los porcentajes de ácidos grasos totales y el índice de acidez. Esto indica la estabilidad de estos ácidos grasos durante el tiempo de duración del experimento.

5.5. Evaluación de las propiedades organolépticas

5.5.1. Análisis triangular

Al inicio del estudio, se realizó una prueba hedónica (test triangular) para las pastas F10 que demostró que no se alcanzó un número de juicios necesarios ($p < 0,05$) para afirmar que el sabor entre las pastas F10 control y F10 antioxidante fuesen diferente entre sí. Por tanto, se aceptó la hipótesis nula (H_0) de que los dos tratamientos se percibían de la misma manera. En cambio, para la pasta Marina el valor de *d-prime* resultó menor ($p < 0,05$) y por ello se rechazó la hipótesis nula (H_0) encontrándose diferencias en el sabor de la pasta Marina debido a la adición de un antioxidante en su formulación.

5.5.2. Análisis descriptivo cuantitativo (QDA)

Tras comprobar el adecuado desempeño de los jueces sensoriales mediante un análisis del panel, se realizó un ANOVA para el punto inicial y otro para el punto final (90 días de almacenamiento) del experimento. En dicho estudio, se establecieron aquellos atributos que habían resultado significativamente distintos para los tipos de pasta elaboradas. Posteriormente, se llevó a cabo una caracterización completa la cual aportó los perfiles sensoriales para todas las pastas en los tiempos inicial y final de la vida útil estudiada (90 días).

En el punto inicial, el ACP explica un 86,17% de la variabilidad del experimento (Figura 15). Se puede ver la clara diferencia sensorial encontrada por el panel entrenado entre los dos tipos de formulaciones (Marina y F10). Mientras que en la pasta Marina predomina el aroma y sabor a pescado, la pastosidad, la disgregabilidad y la elasticidad, en la pasta F10 predomina el color característico, en este caso marrón, el aroma y sabor harina, la masticabilidad, la granulosis y la dureza. Todos los atributos percibidos en cada tipo de pasta son coherentes con la composición de cada formulación; en el caso de las pastas Marina están compuestas con una mayor cantidad de pescado (%) y sémola *Durum* con lo cual, se trata de un producto con un aspecto similar al de una pasta común (básica). Por otro lado, las pastas F10 llevan un menor contenido de pescado y

una adición de productos farináceos con el fin de ser ricas en fibra y por tanto esto afecta su sabor, su color y su textura (Iafelice *et al.*, 2008). Además, se puede ver una separación en las F10 por el método de conservación apreciándose una diferencia entre las secas y las frescas sin embargo como indican las elipses la pasta F10AS es similar a F10CF.

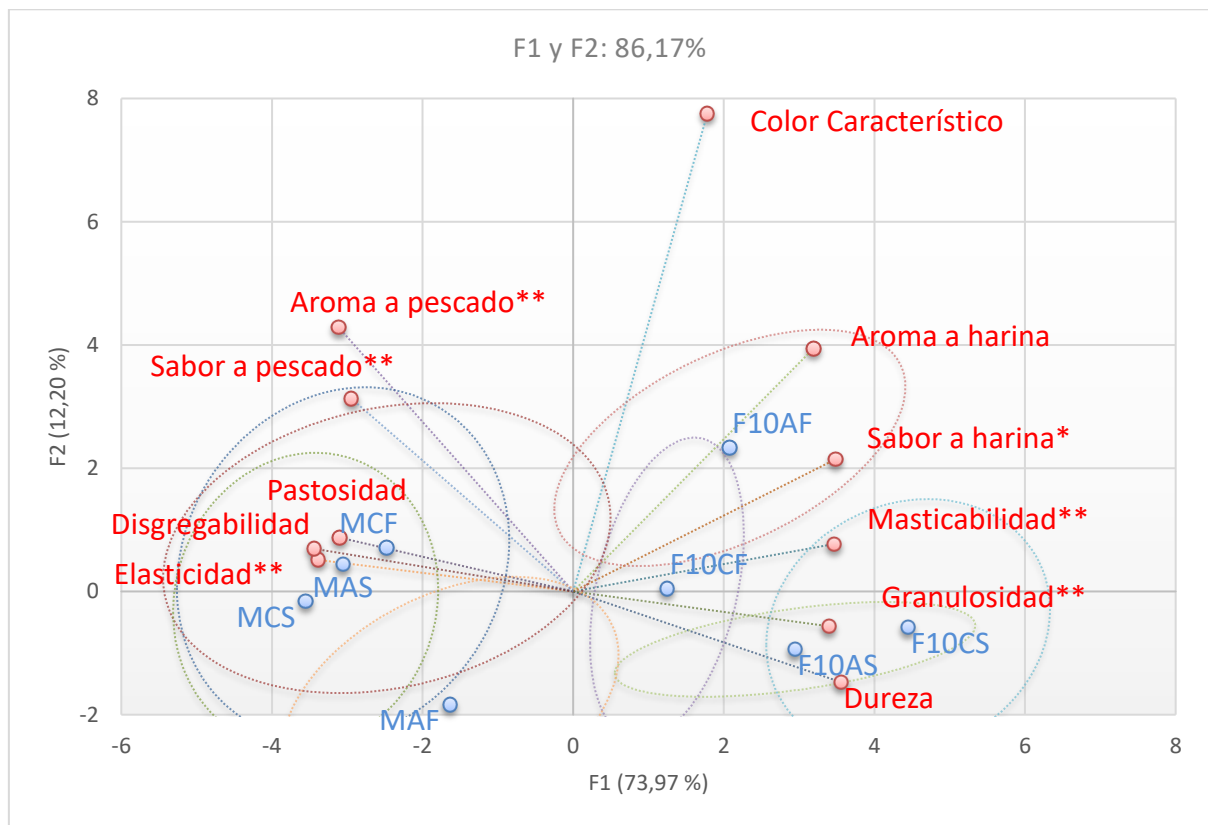


Figura 15. Perfil sensorial del punto inicial.

MCF: Marina control fresca, MCS: Marina control seca, MAF: Marina antioxidante fresca, MAS: Marina antioxidante seca, F10CF: F10 control fresca, F10CS: F10 control seca, F10AF: F10 antioxidante fresca, F10AS: F10 antioxidante seca

Al final del almacenamiento se ejecutó un análisis final para establecer el efecto del tiempo sobre las propiedades organolépticas de las pastas desarrolladas. Los resultados obtenidos en el último punto se muestran en la Figura 16.

En el punto final del experimento se aprecia una dispersión en el *bi-plot* de los tipos de pasta respecto al punto inicial. Se sigue diferenciando claramente entre los dos tipos de pasta, teniendo por el lado izquierdo a F10 y en el lado derecho Marina. Además, en este punto, se puede ver una diferencia debido al método de almacenamiento mientras que el uso de antioxidante parece no afectar en la percepción

sensorial. Por un lado, las F10 secas se encuentran en el mismo grupo predominado por el aroma y sabor a harina y la granulosidad mientras que las F10 frescas se caracterizan por la dureza, la masticabilidad, el color característico y el regusto.

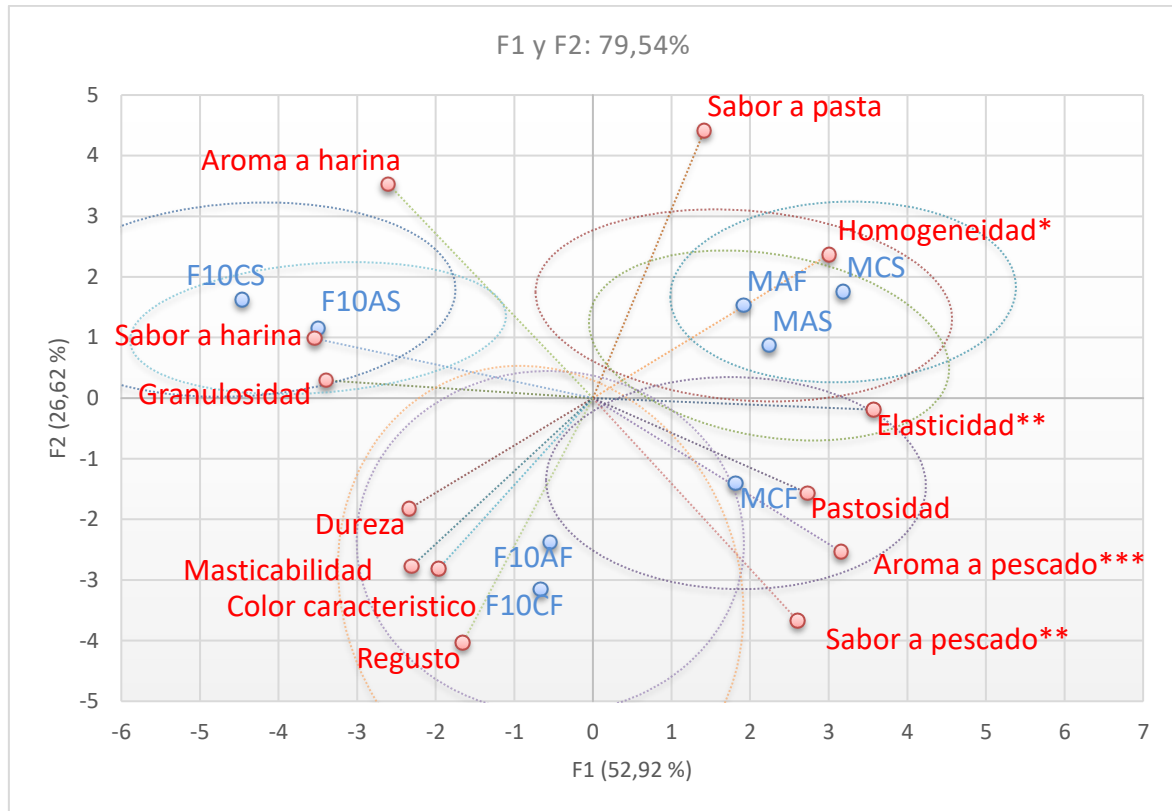


Figura 16. Perfil sensorial del punto final (90 días).

MCF: Marina control fresca, MCS: Marina control seca, MAF: Marina antioxidante fresca, MAS: Marina antioxidante seca, F10CF: F10 control fresca, F10CS: F10 control seca, F10AF: F10 antioxidante fresca, F10AS: F10 antioxidante seca

Por su parte, en las pastas Marina no hay una separación clara por grupos quedando la pasta control fresca separada del resto de pastas Marina y asemejándose a las pastas F10 frescas como muestran las elipses. En la pasta Marina control fresca predomina la pastosidad y el aroma y sabor a pescado mientras que las otras Marina se caracterizan por el sabor a pasta, la homogeneidad y la elasticidad siendo más semejantes a las pastas comunes de gran aceptabilidad (Devi, 2013). Las diferencias entre los dos puntos de análisis respecto a los atributos que han resultado diferentes significativamente se muestran en las Figuras 17 y 18.

Del punto inicial (círculo interior) al punto final (círculo exterior) en la pasta Marina (Figura 17) se produjo un aumento en los parámetros sabor a pescado, aroma a pescado, elasticidad y homogeneidad sin ser percibida significativamente en el punto

inicial de análisis y una disminución en la masticabilidad, granulosis y sabor a harina que no son percibidas significativamente en el punto final. Como se ve en la Tabla 7, los porcentajes de MUFA y PUFA aumentan en el tiempo por lo que se podría ver intensificado el sabor y aroma a pescado del alimento debido a la presencia de estos ácidos grasos libres.

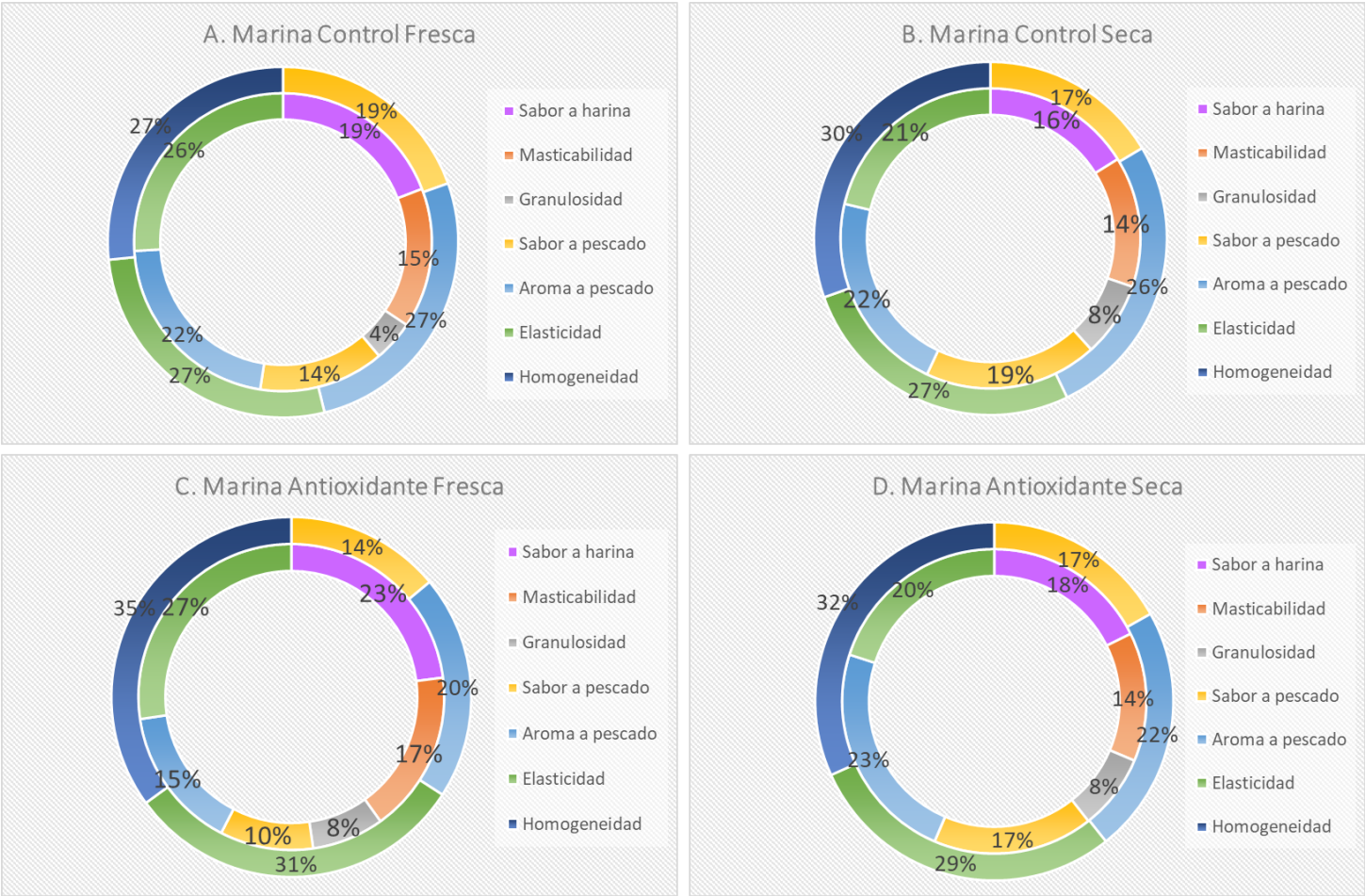


Figura 17. Porcentajes de aquellos atributos con diferencias significativas en la pasta Marina.

***Siendo el círculo exterior el tiempo final (90 días) y el círculo interior el tiempo inicial**

En la Figura 18 se puede observar la pasta F10, la cual muestra el mismo comportamiento que en la pasta Marina respecto a los días de análisis. En el caso de esta formulación el sabor a harina es mucho más intenso que el sabor a pescado al contrario que ocurría en la formulación Marina debido a la composición de está. Por esta misma razón, el aroma a pescado también es menor en este tipo de pasta. Además, las pastas F10 se perciben más granulosas y con mayores valores de masticabilidad que las pastas Marina lo que se podría relacionar con el mayor porcentaje de harina empleado en estas pastas.

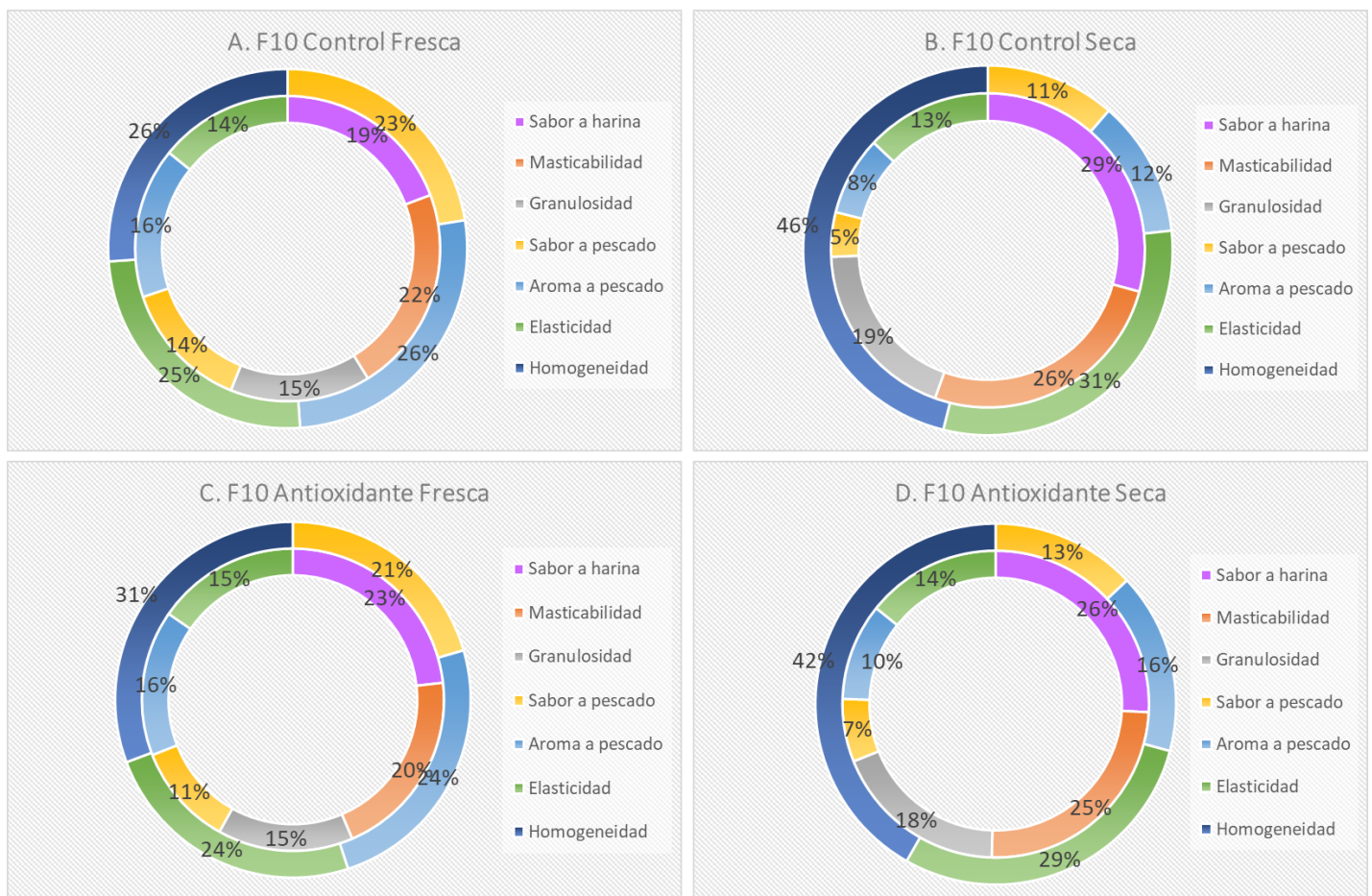


Figura 18. Porcentajes de aquellos atributos con diferencias significativas en la pasta F10.

*Siendo el círculo exterior el tiempo final (90 días) y el círculo interior el tiempo inicial

6. Conclusiones

1. Se fabricaron dos formulaciones de pasta (“Marina” y “F10”) consiguiendo unas pastas alimenticias de mayor calidad nutricional frente a la pasta común comercial.
2. Las pastas desarrolladas aportaron ácidos grasos poliinsaturados de tipo ω -3 y ω -6, de especial interés para la salud, los cuales se mantuvieron estables durante el tiempo del experimento.
3. Aunque sensorialmente no se percibió la oxidación de estas pastas, los valores de TBARS indicaron una variación incipiente en la oxidación a lo largo del tiempo debido principalmente a los ácidos grasos presentes.
4. Los atributos sensoriales no presentaron grandes diferencias en el tiempo. Sin embargo, se produjo un aumento en la intensidad de algunos atributos tales como el aroma y sabor a pescado, la elasticidad y la masticabilidad; mientras que el sabor a harina fue atenuándose.

7. Referencias bibliográficas

- Andrade, M. A., Ribeiro-Santos, R., Costa Bonito, M. C., Saraiva, M., y Sanches-Silva, A., 2018. Characterization of rosemary and thyme extracts for incorporation into a whey protein based film. *LWT*, 92, 497–508.
- BEDCA (Base de Datos Española de Composición de Alimentos). 2019. Disponible en: <http://www.bedca.net/bdpub/>
- AOAC (Official Methods of Analysis), 1990. Official Methods of Analysis. Volume 1. 15 th Ed.
- AOAC (Official Methods of Analysis), 2000. International Official Methods of Analysis. 17th Ed.
- AOAC (Official Methods of Analysis), 2005. Official Methods of Analysis. 8th Ed. 32, 2.
- Asioli, D., Aschemann-Witzel, J., Caputo, V., Vecchio, R., Annunziata, A., Næs, T., y Varela, P., 2017. Making sense of the “clean label” trends: A review of consumer food choice behavior and discussion of industry implications. *Food Research International*, 99, 58–71.
- Babuskin, S., Krishnan, K. R., Saravana, P. A., Sivarajan, M., y Sukumar, M., 2014. Functional Foods Enriched with Marine Microalga *Nannochloropsis oculata* as a Source of w-3 Fatty Acids. , *Food Technology and Biotechnology*, 52(3), 292-299.
- Badui, S., 2006. *Química de los alimentos*. 4th ed. México: Addison Wesley.
- Bligh, E. G. y Dyer, W. J., 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian of Chemical Research*, 36 (4), 255–263.
- Bouillé, A. G. y Beeren, C. J. M., 2016. Sensory Evaluation Methods for Food and Beverage Shelf Life Assessment. *The Stability and Shelf Life of Food*. Elsevier, 199–228.
- Calanche, J., Marquina, P., Beltrán, H., Pérez, T., Roncalés, P., y Beltrán, J.A., 2019. Fusillis con lubina de acuicultura, otra forma de comer pescado. *Interempresas*. Disponible en: <http://www.interempresas.net/Industria-Pescado/Articulos/239297-Fusillis-con-lubina-de-acuicultura-otra-forma-de-comer-pescado.html>
- Celma, M., 2018. Desarrollo de pastas alimenticias frescas enriquecidas con concentrado de lubina (*Dicentrarchus labrax*) y estudio de su estabilidad durante congelación. TFM. Zaragoza, España.
- Codex Alimentarius, 1989. Norma para pescado salado y pescado seco salado de la familia Gadidae. Disponible en: <http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/list-standards/es/>.
- Copant, 1969. NTE INEN 0038: Grasas y aceites comestibles. Determinación de la acidez.

- Costa, C., Lucera, A., Mastromatteo, M., Conte, A., Del Nobile, M. A., 2010. Shelf life extension of durum semolina-based fresh pasta. *International Journal of Food Science & Technology*, 45 (8), 1545–1551.
- DARetail, 2011. Pasta, un mercado a dos velocidades. *Distribución Actualidad*. Disponible en: <https://www.distribucionactualidad.com/pasta-un-mercado-a-dos-velocidades/>.
- Decreto 2181/1975, de 12 de septiembre, por el que se aprueba la Reglamentación Técnico-Sanitaria para la Elaboración, Circulación y Comercio de Pastas Alimenticias. *Boletín Oficial del Estado* N° 220, de septiembre de 1975.
- Desai, A., Brennan, M. A., Brennan, C. S., 2018. The effect of semolina replacement with protein powder from fish (*Pseudophycis bachus*) on the physicochemical characteristics of pasta. *Food Science and Technology*, 89, 52–57.
- Devi, L., 2013. Utilization of fish mince in formulation and development of pasta products. *International Food Research Journal*, 20 (1), 219-224.
- Dexter, J. E., Marchylo, B. A., 2001. Recent Trends in Durum Wheat Milling and Pasta Processing: Impact on Durum Wheat Quality Requirements, *Colloques-Inra* (99), 139.
- EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition, and Allergies (NDA), 2010. Scientific Opinion on Dietary Reference Values for fats, including saturated fatty acids, polyunsaturated fatty acids, monounsaturated fatty acids, trans fatty acids, and cholesterol. *EFSA Journal*, 8 (3). Disponible en: <http://doi.wiley.com/10.2903/j.efsa.2010.1461>.
- Europa Azul, 2018. España un referente en el consumo y valorización de los productos pesqueros. *Europa Azul*. Disponible en: <http://europa-azul.es/espana-un-referente-en-el-consumo-y-valorizacion-de-los-productos-pesqueros/>.
- Filipović, J., Pezo, L., Filipović, V., Brkljača, J., Krulj, J., 2015. The effects of ω -3 fatty acids and inulin addition to spelt pasta quality. *Food Science and Technology*, 63 (1), 43–51.
- Giménez, A., Ares, F., Ares, G., 2012. Sensory shelf-life estimation: A review of current methodological approaches. *Food Research International*, 49 (1), 311–325.
- Glodde, F., Günal, M., Kinsel, M. E., AbuGhazaleh, A., 2018. Effects of natural antioxidants on the stability of omega-3 fatty acids in dog food. *Journal of Veterinary Research*, 62 (1), 103–108.
- Huss, H., 1999. *El pescado fresco: su calidad y cambios de su calidad*. Colección FAO: Pesca, N° 29. Roma, Italia.
- Iafelice, G., Caboni, M. F., Cubadda, R., Criscio, T. D., Trivisonno, M. C., Marconi, E., 2008. Development of Functional Spaghetti Enriched with Long Chain Omega-3 Fatty Acids. *Cereal Chemistry Journal*, 85 (2), 146–151.
- Innofood, 2017. Tendencias en investigación y desarrollo de alimentos. Disponible en: <https://www.innofood.es>.
- ISO 8589:2007. Sensory analysis -- General guidance for the design of test rooms.

- ISSFAL (International Society for the Study of Fatty Acids and Lipids), 2014. Global Recommendations for EPA and DHA Intake. Disponible en: <http://www.iffa.net/cn/system/files/A%206%20Summary%20GOED%20For%20IADS%20only%20english.pdf>.
- Kadam, S. U. y Prabhasankar, P., 2010. Marine foods as functional ingredients in bakery and pasta products. *Food Research International*, 43 (8), 1975–1980.
- Lawless, H. y Heymann, H., 2010. *Sensory Evaluation of Food Science Principles and Practices*. 2nd Edition. Ithaca, New York.
- Lutz R, M., 2013. Desafíos en investigación, desarrollo e innovación en alimentos y nutrición. *Revista chilena de nutrición*, 40 (4), 404–407.
- Man, D., 2002. *Food industry briefing series: shelf life*. Blackwell Science.
- Marcuse, R. y Johansson, L., 1973. Studies on the TBA test for rancidity grading: II. TBA reactivity of different aldehyde classes. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 50 (10), 387–391.
- Martínez, J., Gómez, C., Aranzeta, J., Villarino, A., Moreno, P., Iglesias, C., de Arpe, C., Ortuño, I., Pons, P., Cáceres, M., 2005. *El pescado en la dieta*, Colección de Nutrición y Salud nº6 (1ª ed).
- Merrill, A. L., Watt, B. K., 1973. *Energy value of foods: Basis and derivation*. Washington, U.S.: Department of Agriculture.
- Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, 2018. Informe del consumo de alimentación en España en 2017. Disponible en : https://www.mapa.gob.es/es/alimentacion/temas/consumo-y-comercializacion-y-distribucion-alimentaria/informe_del_consumo_de_alimentos_en_espana_2016_webvf_tcm30-380865.pdf
- Ministerio de Economía, Industria y Competitividad, 2017. La balanza comercial agroalimentario en 2016. Disponible en: <http://www.comercio.gob.es/es-ES/comercio-exterior/informacion-sectorial/agroalimentarios/estadisticas/Documents/20170922%20BalanzaAgroalim2016.pdf>.
- Morales P, J., Valenzuela B, R., González M, D., González E, M., Tapia O, G., Sanhueza C, J., y Valenzuela B, A., 2012. Nuevas fuentes dietarias de ácido alfa-linolénico: una visión crítica. *Revista chilena de nutrición*, 39 (3), 79–87.
- OMS, 2016. Reducir el consumo de sal. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/salt-reduction>.

- Pearson, A. M., Love, J. D., Shorland, F. B., 1977. "Warmed-Over" Flavor in Meat, Poultry, and Fish. Chichester, C. O., Mrak, E. M., and Stewart, G. F., eds. *Advances in Food Research*. Academic Press, 1–74.
- Pfalzgraf, A., Frigg, M., Steinhart, H., 1995. α -Tocopherol Contents and Lipid Oxidation in Pork Muscle and Adipose Tissue during Storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43 (5), 1339–1342.
- Prosky, L., Asp, N.G., Scheweizer, De Vries, J.W., Furda, I., 1988. Determination of insoluble, soluble and total dietary fiber in foods and food products: Interlaboratory study, 71 (5), 1017–1023.
- Qiu, L., Zhang, M., Tang, J., Adhikari, B., Cao, P., 2019. Innovative technologies for producing and preserving intermediate moisture foods: A review. *Food Research International*, 116, 90–102.
- Reglamento (CE) N° 1022/2008 de la Comisión de 17 de octubre de 2008 por el que se modifica el Reglamento N° 2074/2005 en lo que respecta a los valores límite de nitrógeno básico volátil total (NBVT).
- Reglamento (CE) N° 2074/2005 de la Comisión de 5 de diciembre de 2005 por el que se, establecen medidas de aplicación para determinados productos con arreglo a lo dispuesto, en el Reglamento (CE) N° 853/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo y para la, organización de controles oficiales con arreglo a lo dispuesto en los Reglamentos (CE), N° 854/ 2004 del Parlamento Europeo y del Consejo y (CE) N°882/2004 del Parlamento, Europeo y del Consejo, se introducen excepciones a lo dispuesto en el Reglamento (CE), N° 852/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo y se modifican los Reglamentos (CE), and N° 853/2004 y (CE) N° 854/2004., n.d.
- Reglamento (UE) N° 723/2013 de la comisión de 26 de julio de 2013 que modifica el anexo II del Reglamento (CE) N° 1333/2008 del Parlamento Europeo y del Consejo en lo relative a la utilización de extractos de romero (E 392) en determinados productos de carne y de pescado con bajo contenido en grasa.
- Sánchez-Camargo, A. del P., Herrero, M., 2017. Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) as a functional ingredient: recent scientific evidence. *Current Opinion in Food Science*, 14, 13–19.
- Schuchardt, J. P., Huss, M., Stauss-Grabo, M., Hahn, A., 2010. Significance of long-chain polyunsaturated fatty acids (PUFAs) for the development and behaviour of children. *European Journal of Pediatrics*, 169 (2), 149–164.
- Shahidi, F. y Zhong, Y., 2010. Lipid oxidation and improving the oxidative stability. *Chemical Society Reviews*, 39 (11), 4067-4079.
- Shahidi, F. y Zhong, Y., 2015. Measurement of antioxidant activity. *Journal of Functional Foods*, 18, 757–781.

- Sicignano, A., Di Monaco, R., Masi, P., Cavella, S., 2015. From raw material to dish: pasta quality step by step. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95 (13), 2579–2587.
- Silva, D. y Sánchez-González, J. A., 2016. Sensory Shelf life of “Aji de Gallina” packaged using accelerated survival statistics. *Scientia Agropecuaria*, 7, 207–213.
- Talbot, G., 2011. The stability and shelf life of fats and oils. *In: Food and Beverage Stability and Shelf Life*. Elsevier, 683–715.
- UNE-EN ISO (2007). Alimentos para animales. Determinación del contenido en fibra de detergente neutro tratada con amilasa. ISO 16472:2006. Genova, Suiza: International Organization for Standardization.
- UNE-EN ISO (2008). Análisis sensorial. Metodología. Prueba triangular. ISO 4120:2008. Genova, Suiza: International Organization for Standardization.
- UNE-EN ISO (2012). Análisis sensorial. Guía general para la selección, entrenamiento y control de catadores y catadores expertos. ISO 8586:2012. Genova, Suiza: International Organization for Standardization